

UNIVERSITÉ DE PARIS
ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Année 1919-1920

N° 3

MÉTHODE
DE
RECHERCHE MICROCHIMIQUE
POUR
CERTAINS CONSTITUANTS DES HUILES ESSENTIELLES

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de Dr de l'Université de Paris (Pharmacie)

Présentée et soutenue le 8 Novembre 1919

PAR

René BAUDRY ☼

Pharmacien de 1^{re} classe.

JURY { MM. PERROT, *Président.*
DELEPINE, *Professeur.*
GORIS, *Agrégé.*

PARIS
VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS
23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1919

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT EN PHARMACIE

UNIVERSITÉ DE PARIS
ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Année 1919-1920

N° 3

MÉTHODE
DE
RECHERCHE MICROCHIMIQUE
POUR
CERTAINS CONSTITUANTS DES HUILES ESSENTIELLES

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de D^r de l'Université de Paris (Pharmacie)

Présentée et soutenue le 8 Novembre 1919

PAR

René BAUDRY ✠

Pharmacien de 1^{re} classe.



JURY { MM. PERROT, *Président.*
DELEPINE, *Professeur.*
GORIS, *Agrégé.*

PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1919

Personnel de l'École Supérieure de Pharmacie

ADMINISTRATION

MM. H. GAUTIER, *Directeur*, *, ☉ I.
 BOURQUELOT, *Assesseur*, *, ☉ I.
 G. DURSANT, *Secrétaire*, ☉ I.

PROFESSEURS

MM. GUIGNARD, Membre de l'Institut,	
O. *, ☉ I.....	Botanique générale.
VILLIERS, *, ☉ I.....	Chimie analytique.
BOURQUELOT, Membre de l'Institut, *, ☉ I.....	Pharmacie galénique.
H. GAUTIER, *, ☉ I.....	Chimie minérale.
RADAIS, *, ☉ I.....	Cryptogamie.
BEHAL, C. *, ☉ I.....	Chimie organique.
PERROT, O. *, ☉ I.....	Matière médicale.
COUTIERE, *, ☉ I.....	Zoologie.
BERTHELOT, Membre de l'Institut, ☉ I.....	Physique.
GRIMBERT, *, ☉ I.....	Chimie biologique.
LEBEAU, *, ☉ I.....	Pharmacie chimique.
DELEPINE, *, ☉ I.....	Hydrologie et Hygiène.
GUERBET, ☉ I.....	Toxicologie.

Directeur honoraire : M. GUIGNARD, O. *, ☉ I.

Professeur honoraire : M. MOUREU, O. *, ☉ I.

CHARGÉS DE COURS

MM. TASSILLY, *, ☉ I..... Minéralogie.
 MARC HONNORAT, *, ☉ I. Législation et Déontologie pharmaceutiques.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. VALEUR, *, ☉ I.	MM. DAMIENS.	MM. GORIS, *, ☉ I.
BOUGAULT. ☉ I.	TASSILLY, *, ☉ I.	LAUNOY.
SOMMELET, ☉ I.	GUERIN, ☉ I.	HERISSEY, *, ☉ I.
	LUTZ, ☉ I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, *, ☉ I.....	Chimie générale.
COUSIN, ☉ I.....	Chimie analytique.
SOUÈGES, ☉ A.....	Micrographie.
MOURLLOT, ☉ I.....	Physique.
DEVAL, ☉ I.....	Microbiologie.
JAVILLIER, *, ☉ I.....	Travaux généraux de 4 ^e année.

Chef du Laboratoire des Examens pratiques : M. JAVILLIER, *, ☉ I.

Bibliothécaire en Chef : M. DORVEAUX, ☉ I.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR EM. PERROT

Hommage de respectueuse reconnaissance.

A LA MÉMOIRE DE MON AMI

LE LIEUTENANT CHARLES-LOUIS GATIN

Mort pour la France à la tête de ses Zouaves

Devant Douaumont, le 26 février 1916.

Souvenir d'affectueuse reconnaissance.

A LA MÉMOIRE DE MES AMIS

Morts au Champ d'Honneur.

À LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA FEMME

A MA FAMILLE

A MES AMIS

MÉTHODE
DE
RECHERCHE MICROCHIMIQUE
POUR
CERTAINS CONSTITUANTS DES HUILES ESSENTIELLES

INTRODUCTION

Ce travail est consacré à la recherche du méthylan-
thranilate et de l'antranilate de méthyle.

Le but de ces recherches est d'établir par des procé-
dés microchimiques la mise en évidence de l'antrani-
late et du méthylantranilate de méthyle chez les plan-
tes contenant des acides amidés.

Notre méthode de recherche microchimique est basée
sur la réaction que donne l'essence en présence de
l'acide sulfurique et de l'éther, et sur l'étude micro phy-
sique des cristaux qui en résultent. Cette étude com-
porte principalement l'examen de leurs caractères de
solubilité vis-à-vis de dissolvants caractéristiques, choi-
sis à la suite d'une étude expérimentale préliminaire.
L'identification repose sur une étude parallèle des cris-
aux de sulfate de calcium, de potassium, d'asparagine,

qui sont les corps de sécrétion les plus répandus dans les végétaux et qu'on rencontre à l'état libre comme les essences.

La première partie de l'ouvrage est consacrée à l'étude des cristaux de sulfate obtenus directement avec les produits purs, et à l'étude des sulfates étrangers : calcium, potassium, etc...

La seconde partie est constituée par l'examen des résultats que donne l'application de la méthode à la recherche de ces deux produits chez les plantes.

Dans la recherche microchimique des dérivés amidés anthranilate et méthylantranilate de méthyle, aussi bien que dans celle des constituants phénoliques comme le thymol, on s'adresse d'abord à des végétaux connus pour posséder ces corps. Mais la recherche microchimique a sur les méthodes de recherche connues, l'avantage de rendre possible les moyens d'investigation sur tous les végétaux. On pratique des coupes dans les feuilles, les fleurs, les graines odorantes. A l'aide du Soudan III ainsi que nous l'indiquerons au cours de notre travail, on relève la présence ou l'absence des essences, des huiles essentielles, leur coloration par le Soudan III étant caractéristique.

Si cette coloration a lieu, on étudie d'abord la localisation des essences.

Une fois celles-ci localisées, on pratique des coupes favorables à l'étude microchimique. Si les essences sont localisées dans des poils ou dans des poches sécrétrices de l'assise sous-épidermique, on fait alors des coupes tangentielles.

S'il s'agit de la recherche des dérivés amidés, on provoque la formation de cristaux de sulfate.

On suivra l'évolution de la réaction chimique en consignant soigneusement les résultats obtenus. C'est ce que nous avons cherché à faire le plus clairement possible, en établissant de notre mieux la figuration de tous les différents systèmes de cristallisation que nous avons été à même d'observer; en notant très exactement les différences de solubilité de ces cristaux très divers dans les réactifs employés. Rien que nous sachions n'a été fait dans ce genre, aussi pourra-t-on trouver quelque intérêt dans la publication de ces recherches qui viennent compléter les documentations si intéressantes que nous possédons sur les plantes à essence et que nous devons surtout aux travaux de GUIGNARD, de CHARABOT et de GATIN.

HISTORIQUE

Les parfums n'ont jamais été un élément économique de première nécessité, mais de tout temps ils furent en vogue. Leur recherche qui plait à l'odorat est comparable à celle des couleurs et des lignes qui plaisent à l'œil. C'est un besoin de la sensibilité humaine, et il rentre dans le domaine de l'art, comme en sont déjà l'agencement des sons et des images. Aussi, les parfums ont-ils toujours été en usage et l'étude des civilisations anciennes nous donne leur histoire à travers les âges.

L'Égypte consacrait les aromates aux rites de la religion.

Les artisans égyptiens avaient acquis une telle maîtrise dans la composition des parfums que tout le monde civilisé d'alors se fournissait entièrement chez eux.

À Thèbes, à Memphis, les prêtres offraient aux dieux la myrrhe et le Rupphi. Les aromates servirent ensuite à l'embaumement des morts. Enfin l'usage des parfums se répandit parmi le public élégant, il intervint dans la toilette des femmes, contribuant au luxe et au charme des fêtes.

Dans les banquets on brûla des résines odorantes en de riches cassolettes; dans la salle étaient disposées des fleurs aux émanations subtiles, et des esclaves, spécia-

lement chargées de ce service, versaient sur la tête des convives de précieuses essences.

La Bible nous apprend que l'usage des parfums était quotidien chez les Hébreux.

Les parfums préférés des Juifs étaient l'encens, le nard, la myrrhe, le safran, le styrax.

D'après la loi de Moïse, les jeunes filles nubiles devaient se purifier durant un an entier par l'emploi de parfums soigneusement déterminés : essence de rose, benjoin, arracandah, etc.

Les rois asiatiques, les princes assyriens, les satrapes perses ou babyloniens faisaient une énorme consommation de parfums et les tributs imposés à certaines nations soumises comportaient toujours des produits aromatiques.

A Athènes les boutiques des marchands de parfums, luxueusement ornées, étaient des lieux de réunion et de rendez-vous.

En conquérant la Grèce et l'Asie Mineure, les Romains en vinrent peu à peu aux mœurs efféminées de leurs habitants et le goût de la parfumerie devint chez eux une passion véritable.

Après l'invasion des Barbares l'usage des parfums fut uniquement réservé au culte ; puis survinrent les Croisades. Les « Croisés », Seigneurs et Chevaliers, rapportèrent de l'Orient l'usage des parfums dans la vie privée en offrant à leur retour, à la Dame de leurs pensées, les précieux aromates des pays ensoleillés.

Les femmes du XIII^e siècle recherchaient le musc et l'ambre et se fardaient le visage. Une fois adoptée en

France, la mode des parfums ne disparut plus ; tout devint prétexte à odeurs : on plaçait au milieu du linge des sachets pour l'imprégner de senteurs. Au ^{xiv}^e siècle, la haute société paraît avoir estimé surtout la lavande et la violette.

Au ^{xv}^e siècle, les parfums préférés sont la poudre de violette et celle de Chypre, la civette, le musc, l'ambre gris, les essences de fleur d'oranger, de rose, de romarin.

Charles VIII eut un parfumeur en titre. Catherine de Médicis eut le sien également. La composition des parfums devint une science à demi mystérieuse dont les secrets ne se prodiguaient pas et un parfumeur semblait bien proche parent d'un alchimiste.

A aucune époque on n'abusa autant du parfum qu'au ^{xvii}^e siècle. L'odorat blasé par les senteurs que l'Inde et l'Amérique fournissaient depuis cent ans, ne pouvait se contenter que d'essences et de quintessences. Les parfumeurs faisaient vite fortune et quelques-uns d'entre eux, honorés de la faveur des grandes dames, ont vu leur nom conservé par la postérité.

Mais les parfums eurent l'infortune d'incommoder Louis XIV. Dès lors pour eux, toute vogue cessa ; cependant, après la mort du Roi Soleil les parfums reparurent, mais ils ne retrouvèrent jamais l'éclatante faveur dont ils avaient joui au début du règne et cette mode ne survécut point à la Révolution.

Les muscadins du Directoire tentèrent une résurrection, mais elle fut de courte durée.

Le Consulat et l'Empire ne les connurent point, les

hommes ne vivant que dans l'odeur de la poudre des combats.

La bourrasque passée, la mode parfumée reparait, timide encore sous la Restauration.

Depuis, elle n'a fait que se développer et si aujourd'hui l'atmosphère est encore imprégnée en maints endroits de la surface du globe, de l'odeur de la poudre, cela n'empêche nullement le règne des parfums de se développer et on peut dire sans conteste qu'à aucune époque de l'histoire du monde ils n'ont été autant en faveur qu'à l'heure actuelle.

En France surtout, l'industrie des parfums s'est considérablement développée et la culture des plantes susceptibles de nous les fournir a pris depuis quelques années une grande extension dans le Sud-Est. On peut dire que notre beau pays possède à l'heure actuelle le monopole de l'industrie des parfums.

Ce monopole, nous devons le conserver ; aussi doit-on songer à un plus large développement de l'exploitation des plantes odoriférantes. Et si l'on veut qu'il en soit ainsi, il importe d'abord que les conditions de production soient assez économiques afin qu'il soit permis d'associer sans trop de parcimonie les produits naturels aux produits de synthèse.

C'est en étudiant chaque jour davantage le chimisme des parfums chez les plantes que l'on parviendra à mieux résoudre les problèmes qui s'y rattachent.

La plante, en effet, constitue un véritable laboratoire, où chaque jour, sous les diverses influences du milieu

et des agents extérieurs, s'opèrent des réactions multiples plus ou moins complexes.

C'est dans ce laboratoire vivant que nous irons chercher les éléments de notre documentation pour y étudier ce qui a trait au chimisme des parfums, et plus spécialement à la composition des huiles essentielles.

Cette étude est particulièrement délicate car les huiles essentielles sont des mélanges plus ou moins complexes de corps organiques dont certains contribuent seuls à l'arôme de la plante.

Parmi les principes odorants, on rencontre notamment des composés qui forment un groupe chimique bien homogène, c'est celui des *composés terpéniques*, mais indépendamment des composés terpéniques, les huiles essentielles renferment de nombreux corps appartenant soit à la *série grasse*, soit à la *série aromatique*, quelques composés, encore mal définis, n'ont pu jusqu'ici être classés.

Certains de ces principes odorants se retrouvent chez des végétaux très éloignés les uns des autres dans la systématique, mais aussi on peut trouver réunies dans une même plante des substances qui possèdent entre elles des relations chimiques si étroites qu'on est amené à en déduire certaines analogies d'origine. Dans cet ordre d'idées GATIN (1) a essayé de montrer qu'il existe des rapports entre certains caractères de l'anatomie des plantes et la composition de leurs huiles essentielles.

1. CHARABOT et GATIN. *Le Parfum chez la Plante*. Doin, éd., Paris, 1908, p. 26.

Les travaux de MM. RICHARD T. BAKER et HENRY G. SMITH (1) suggéraient cette hypothèse, car ces auteurs ont montré qu'il semblait exister une relation étroite entre la nature des constituants des essences chez diverses espèces de plantes et la disposition des nervures de leurs feuilles.

Il y a d'autres relations entre les essences et l'anatomie des plantes ; de nombreux travaux parmi lesquels il faut citer ceux de MALPIGHI (2), GUETTARD (3), DE CANDOLLE (4), MIRBEL (5), TRÉCUL (6), HANSTEIN (7), J.-C. MULLER (8), HABERLANDT (9), VAN TIEGHEM (10), M^{lle} LEBLOIS (11), TSCHIRCH (12), et de ses élèves, ont relevé les organes où se localiseraient chez les plantes, les huiles essentielles. Ces organes qui sont tantôt des

1. BAKER et SMITH. *A research on the Eucalyptus*. Güllick, Sidney, 1902, p. 14.

2. MALPIGHI. *Opera Omnia. Anatome Plantorum*. Londoni, 1687, p. 41.

3. GUETTARD. *Sur les corps Glanduleux des Plantes*. *Hist. Ac. Roy. Sc.* 1^o Mém. 1745, p. 261 ; 2^o Mém. 1747, p. 515 ; 4^o Mém. 1748, p. 441 ; 5^o Mém. 1749, p. 392 ; 7^o Mém. 1750, p. 179 ; 8^o Mém. 1750, p. 246 ; 9^o Mém. 1751, p. 334 ; 10^o Mém. 1756, p. 307.

4. DE CANDOLLE. *Physiologie végétale*, Béchet Jeune, Paris, 1832, p. 288.

5. MIRBEL. *Anat. et Phys. Labiées*. *Hist. Nat.*, Paris, 1810, p. 213.

6. TRÉCUL. *Observations sur la structure des feuilles des Orchidées*. *Bull. Soc. Bot.*, II. Paris, 1855, pp. 445-452.

7. HANSTEIN. *Bot. Zeit.* Leipzig, 1868, p. 769.

8. J.-C. MULLER. *Pringsheim's Jahrbücher für Wissensch. Bot.*, t. V, Leipzig, 1866-67, p. 287.

9. HABERLANDT, *Physiologische Pflanzenanatomie. — Sitzungsb. KK. Ac. d. Wiss. Wien*, 1896, t. CVII, ab. I.

10. VAN TIEGHEM, *Ann. Sc. Nat., Bot.*, Paris, 1885, t. I (7), p. 5.

11. LEBLOIS, *Ann. Sc. Nat., Bot.*, Paris, 1887, t. VI (7), p. 247-330.

12. TSCHIRCH, *Ber. d. d. Bot. Gesellsch.*, Berlin, 1901, t. XIX, p. 25.

lacunes intercellulaires, tantôt de véritables glandes internes ou externes, ont été appelés : *canaux sécréteurs*, *glandes sécrétrices*, *poils sécréteurs*, *vaisseaux laticifères*, *cellules sécrétrices*, *poches sécrétrices*. Les *poches sécrétrices* et les *canaux sécréteurs* ont été rangés dans la série des appareils à *sécrétion externe*, les autres constituent les appareils de sécrétion interne, mais ce qui nous importe surtout c'est le mécanisme de la sécrétion des essences dans ces organes.

Dans les cellules sécrétrices, le mécanisme de la sécrétion se ferait, d'après MM. TSCHIRCH et BIERMANN (1) de cette façon curieuse : l'huile essentielle proviendrait de la « modification de la membrane même de la cellule ».

Rappelons que dans les poils sécréteurs, la sécrétion se trouverait toujours localisée, d'une manière uniforme, entre la *membrane de la cellule* et sa *cuticule* ; et pour MM. TSCHIRCH et TUNMANN (2), l'huile essentielle se formerait encore dans ce cas, aux dépens de la membrane cellulaire qui subirait une sorte de gélification dans sa partie contiguë à la cuticule.

Mais d'autres auteurs et notamment MARTINET (3) ont observé dans les poils des Labiées et des Composées de nombreuses gouttelettes d'huile essentielle à l'intérieur des cellules sécrétrices. Aussi MARTINET pense-t-il que c'est cette huile essentielle qui, passant

1. TSCHIRCH et BIERMANN, *Arch. Pharm.* Berlin, 1898, t. CCXXXVI, p. 74.

2. TSCHIRCH et TUNMANN, *Arch. Pharm.* Berlin, 1901, t. CCXXXIX, p. 7.

3. MARTINET, *Organes de sécrétion des végétaux ; Thèse Fac. sc. Paris*, 1871.

au travers de la paroi cellulaire, vient s'extravaser entre la membrane et la cuticule.

Depuis, MESNARD (1) a émis l'idée que ces gouttelettes étaient formées d'une huile différente de celle qui est extravasée.

Les travaux déjà anciens de MEYEN (2) et J. C. MULLER (3) cherchaient à démontrer que les huiles essentielles qu'on trouve dans les poches et canaux sécréteurs ont été élaborées dans les cellules qui bordent ces cavités et qu'elles ont traversé les membranes cellulaires.

Mais SANIO (4) a fait remarquer plus tard, que dans les canaux très jeunes, on constate *d'abord* la présence de ces huiles dans la lumière des canaux, et seulement *ensuite* dans les cellules qui les bordent. Cette observation a été d'ailleurs confirmée par TSCHIRCH (5).

TSCHIRCH ayant trouvé insuffisante l'explication qui consistait à dire que la membrane des cellules bordant le canal, d'abord perméable aux huiles essentielles, pouvait ne plus l'être ensuite, établit sa théorie de la sécrétion des huiles essentielles : « Les huiles essentielles résultent toujours de la modification de la membrane. »

Il ne pensait pas qu'il fut possible d'identifier les gouttelettes sécrétées dans les cellules limitantes avec l'huile essentielle qu'on trouve dans la lumière des glandes.

1. MESNARD *Ann. Sc. Nat., Bot.*, Paris, 1894, t. XVIII (7^e) pp. 318-380.

2. MEYEN, *Ueber die Sekretionsorgane der Pflanzen*, Berlin, 1837, p. 18.

3. J.-C. MULLER, 1866, *loc. cit.*

4. SANIO, *Pringsheim's Jahrbücher*, Leipzig, 1873, t. IX, p. 101.

5. TSCHIRCH, 1901, *loc. cit.*

MM. GATIN et CHARABOT (1) ont rejeté la théorie de TSCHIRCH : *Les produits odorants semblent doués dans la plante, d'une singulière mobilité et non pas condamnés, comme l'admet M. Tschirch à rester incapables de traverser des parois cellulaires.*

On verra dans l'exposé de nos recherches que nous avons constaté l'identité des produits odorants relevés dans les cellules sécrétrices isolées, dans les cellules limitant les glandes sécrétrices. Nous avons même été porté à avancer que l'apparition de ces produits était concomitante d'une activité cellulaire. GATIN le pensait avec nous, et nos études microchimiques, faites sur les graines de *Nigella damascena* L. et du *Lupin rose*, durant leur germination, semblent bien vérifier cette hypothèse.

La formation des essences est sous la dépendance de facteurs nombreux et divers.

On connaît l'influence considérable qu'exercent la lumière, la chaleur, l'humidité, la nature chimique du sol, sur la structure et sur les principales fonctions physiologiques des végétaux. Le professeur E. WARMING (2) a exposé en détail la série de tous les travaux qui ont montré quelle est la nature et l'importance relative de l'influence de ces divers facteurs.

Les études d'anatomie expérimentale de M. GASTON BONNIER (3) ont nettement établi que les plus grandes

1. CHARABOT et GATIN, *loc. cit.*

2. E. WARMING. *Lehrbüch der Oekologische Pflanzengeographie*, Berlin, 1902, (2), p. 14.

3. GASTON BONNIER. *Ann. Sc. Nat., Bot.*, t. XX, (7), Paris, 1895, p. 217. — *Rev. Gén. Bot.*, Paris, 1890, t. II, pp. 276 et 513 ; — *id.*, 1894, t. VI ; 1895, t. VII.

modifications anatomiques se produisent sous l'influence de l'humidité de l'air et de l'éclairement. M. BONNIER a montré également que l'assimilation chlorophyllienne est sous l'influence de ces deux facteurs. C'est pourquoi nous sommes autorisé à croire que les facteurs envisagés doivent jouer un rôle important dans la teneur des plantes en huiles essentielles et sur la composition de celles-ci. Nos recherches nous ont montré que l'apparition de principes odorants ou l'exaltation de leur formation peut dépendre de ces facteurs.

D'ailleurs MM. CHARABOT et HÉBERT(1) ont déjà obtenu quelques résultats à ce point de vue. Ils ont cherché à modifier la composition des huiles essentielles de diverses espèces végétales en ajoutant au sol des sels minéraux. Leurs recherches ont porté notamment sur la menthe poivrée (*Mentha piperita* L.). L'addition des sels au sol a pour effet de favoriser l'éthérification du menthol chez la menthe poivrée (*Mentha piperita*).

Les mêmes auteurs (2) ont étudié les différences de composition existant entre une huile essentielle extraite de plants d'*Ocimum Basilicum* L. (Basilic) ayant poussé en pleine lumière, et l'huile essentielle extraite de plants croissant à l'ombre. L'influence de la lumière est très grande et exalte la teneur en composés terpéniques.

L'étude du facteur humidité sur la Lavande (*Lavandula vera* D. C.) a montré que la proportion d'éther de

1. CHARABOT et HÉBERT. *Bull. Soc. Chim.*, Paris, 1902 ; (3), t. XXVII, pp. 162, 204, 914.

2. CHARABOT et HÉBERT. *Bull. Soc. Chim.*, Paris, 1905 ; (3), T. XXXIII, p. 1121.

Linalol est très faible chez les lavandes des milieux humides, et chez les lavandes d'Angleterre.

En outre, les recherches de M. CHARABOT (1), de GILDEMEISTER et HOFFMANN (2) montrent que cette teneur en éther augmente chez la *Lavande* (*Lavandula vera* D. C.) avec l'altitude; c'est donc que nous devons envisager les deux facteurs : sécheresse, et éclaircissement.

D'après les travaux de CHARABOT (3), LALOUÉ (4) DUPONT et GUERLAIN (5) BERTRAM et WALBAUM (6) la composition d'une essence produite par la même espèce dépend de son *origine géographique*.

M. CHARABOT (7) a poussé plus loin l'analyse. Il a étudié l'influence des deux sels : celle du chlorure de sodium, défavorable à la fonction chlorophyllienne, et celle du nitrate de sodium qui est favorable à cette fonction. L'addition au sol de chlorure de sodium ou de nitrate de sodium a pour effet d'accentuer l'augmentation de la proportion centésimale de matière organique dans la plante, ainsi que la perte relative d'eau. Et tandis que ces deux sels exercent séparément sur le végétal

1. CHARABOT. *Bull. Soc. Chim.*, Paris, 1901 ; (3), t. XXV, p. 262.

2. GILDEMEISTER et HOFFMANN. *Les huiles essentielles*, (trad. franç. A. GAULT). Paris et Leipzig 1900, p. 733.

3. CHARABOT. *Agric. prat. des Pays chauds*. Paris, 1904, t. IV, p. 94. *Bull. Soc. Chim.*, Paris, 1900 ; (3), t. XXIII, p. 474.

4. CHARABOT et LALOUÉ, *Bull. Soc. Chim.*, Paris, 1907 ; (4), t. I, pp. 280 et 483.

5. J. DUPONT et J. GUERLAIN, *C. R. Ac. Sc.*, Paris 1897, t. CXXIV, p. 300.

6. BERTRAM et WALBAUM. *Arch. Phar.*, Berlin, 1897, t. CCXXXV, p. 176.

7. CHARABOT. *Agric. prat. des Pays Chauds*. Paris, 1902-3, t. II, p. 395. CHARABOT et HÉBERT. *Bull. Soc. Chim.* Paris, 1902 ; (3), t. XXVII, p. 162 et 204. — *Id.*, 1903 ; (3), t. XXIX, pp. 612 et 982.

cette double influence, ils favorisent en même temps l'éthérification ; mais ils entravent, au contraire, la transformation du menthol en menthone.

L'addition de ces deux sels au sol a donc pour effet d'augmenter l'éthérification chez les plantes.

En résumé, les recherches portant sur l'influence de la nature du sol ont abouti à ces résultats importants : l'éthérification chez les plantes s'effectue par l'action directe des acides sur les alcools préalablement formés, et ce phénomène est favorisé par un agent particulier jouant le rôle de déshydratant. En second lieu, les influences capables de modifier les plantes de façon à les adapter à une fonction chlorophyllienne plus intense, favorisent en même temps l'éthérification des alcools terpéniques ; ainsi l'addition au sol d'un sel minéral a pour effet : d'une part, de diminuer l'état d'hydratation du végétal, d'autre part, de favoriser à la fois l'éthérification des acides et celle des alcools.

« C'est donc en se montrant favorable à l'élimination mécanique de l'eau que la fonction chlorophyllienne active l'éthérification..... Ainsi, non seulement la fonction chlorophyllienne assure la fixation par les tissus végétaux du gaz carbonique, et réalise la circulation des liquides nutritifs en favorisant la transpiration, mais elle active encore, une fois le carbone assimilé, les condensations qui permettent le passage d'une molécule simple à une de ces molécules complexes dont l'étude exerce, depuis plus d'un siècle, la sagacité des chimistes (1). » (E. CHARABOT.)

1. CHARABOT et GATIN, *loc. cit.*, pp. 346-347.

Enfin, les déformations tératologiques de la menthe poivrée, caractérisée par cette dénomination : « Menthe basiliquée », parce que l'aspect des menthes déformées rappelle celui des sommités défléuries d'*Ocimum Basilicum* L. ont donné lieu à d'intéressantes observations de MM. CHARABOT et EBRAY (1) et de M. MARIN MOLLIARD (2). Les résultats obtenus par M. CHARABOT s'appliquent directement au point de vue qui nous occupe ; ils établissent que l'huile essentielle, extraite des pieds de menthe basiliquée, est plus abondante et plus riche en éther que l'huile essentielle extraite de plants normaux ; de plus, le mélange des acides combinés est moins riche en acide valérianique dans la menthe basiliquée.

Il y a donc un grand intérêt à poursuivre ces études ; les recherches indiqueront le moyen d'exalter la production des huiles essentielles, ou la façon de modifier leur composition. *Pour atteindre ces résultats, deux méthodes s'offrent à nous : la méthode chimique et la méthode microchimique.*

C'est vers cette dernière que sont allées nos préférences parce qu'elle ne met en œuvre que peu de matériaux et que les résultats en sont rapides, ce qui facilite beaucoup l'étude expérimentale. Voici du reste, les faits qui ont motivé nos conclusions.

1° Lorsque les gouttelettes se dissolvent dans le chloroforme, dans l'éther, dans le sulfure de carbone,

1. CHARABOT et EBRAY. *Bull. Soc. Chim.*, Paris, 1898 ; (3), t. XIX, p. 119,

2. MARIN MOLLIARD. *Rev. gén. Bot.*, Paris, 1905, t. XVII, p. 473.

en produisant un léger trouble dans l'eau, on sait que l'on a affaire à de l'huile essentielle.

2° En chauffant les extraits à 100-110° on amène la disparition des huiles essentielles. Les huiles qui subsistent sont des huiles grasses.

3° Lorsque les coupes sont laissées quelque temps dans l'eau bouillante elles perdent leur huile essentielle quand elles en ont ; les huiles essentielles distillent avec la vapeur, les huiles grasses se volatilisent déjà à cette température. On ne peut donc compter effectuer ainsi leur séparation ; mais les huiles grasses saponifiées avec une solution de potasse à 15 ou 25 % de concentration, deviennent séparables des huiles essentielles. En lavant à l'eau, on chasse ce savon, les gouttes d'essence d'après les expériences d'OTTO TUNMANN (1) demeurent intactes dans l'opération, tandis qu'une essence riche se dissoudra complètement dans la potasse.

4° Les huiles essentielles réduisent l'oxyde d'osmium à l'état d'osmium métallique. Mais les huiles grasses dont l'acide n'est pas saturé, les tanins et le protoplasme réduisent aussi l'acide osmique (2).

5° L'orcanette acétique dont la préparation a été donnée par M. GUIGNARD (3) colore en rouge foncé les

1. OTTO TUNMANN, *Ueber die Sekretdrüsen*. Inaug. Diss., Bern, Gustav Fock, Leipzig, 1900, p. 11.

2. D. BLONDEL. *Les produits odorants des rosiers*. Doin, Paris, 1889, p. 90.

3. GUIGNARD. *J. Bot.* Paris, 1890, t. IV, p. 447.

huiles grasses, les huiles essentielles et les résines, sans réagir sur le protoplasme.

Sur les conseils de M. GUIGNARD, M. PERROT fut amené à faire une série d'expériences en vue de trouver un autre réactif qui permit de contrôler l'orcanette et voici la formule à laquelle il s'est arrêté.

Violet de Paris	0 gr. 10
Acide acétique crist.	10 cc.
Alcool à 90°.	100 cc.
Eau distillée	90 cc.

On prend 10 centimètres cubes de cette solution qu'on additionne de 10 centimètres cubes d'acide acétique ordinaire et de 80 centimètres cubes d'alcool à 40°.

Le réactif ainsi obtenu, d'un violet très vif, ne colore plus que certaines huiles essentielles à fonction chimique déterminée, ainsi que M. PERROT l'a montré, et quelques minutes suffisent largement pour fixer les colorations.

Une série d'essais sur des essences à fonction chimique connue fournit les résultats suivants : les essences de cannelle, de menthe, de lavande, et d'autres labiées, d'anis, de badiane, de moutarde, de muscades, d'amandes amères, de gaultheria, de géranium rosat, de camphre, etc... prennent la coloration violette ; mais celles de bourgeon de sapin, de térébenthine, de citron, de cédrat, de bergamote, de copahu, de santal, de rue, etc... restent intactes.

En poussant plus loin ses investigations. M. PERROT a remarqué que les huiles grasses telles que celles de ricin, d'amandes douces, d'œillette, d'olive, de même

que les carbures purs tels que le citrène, le térébenthène, le colophène ne se colorent nullement ; au contraire le bornéol, l'eucalyptol, le thymol, l'eugénoï, se colorent nettement en violet (1).

6° Le Soudan III, se dissout très bien dans les huiles grasses et les huiles essentielles : mais il se fixe aussi sur les résines, sur la cutine et sur la subérine.

7° Le réactif de MESNARD et la méthode de MESNARD donnent des résultats fugitifs, mais la réaction est très nette. « Les essences apparaissent comme des globules sphériques d'aspect huileux et colorés en jaune d'or, quelquefois lavés d'une teinte verdâtre. » (MESNARD (2).)

8° Le réactif de UNVEDOR BEN FRANCHIMONT (3) a donné de bons résultats pour l'étude des sécrétions des Hypéricacées. Les résines ou les huiles essentielles se colorent en vert émeraude. Mais cette coloration ne se *produit pas toujours*. (M^{mo} SCHWABACH (4).)

9° Le bleu de quinoléine ou cyanine, en solution dans la potasse alcoolique, colore en bleu les huiles essentielles, les graisses, la subérine et la lignine.

10° Quelques méthodes d'étude microchimique plus précises, mais d'un emploi restreint ont été apportées par plusieurs botanistes et en particulier par M. GUI-

1. E. PERROT. *J. Pharm. et Chim.*, Paris, 1891, (5), t. XXIII, p. 498.

2. MESNARD, *loc. cit.*

3. FRANCHIMONT. *Archiv. Néerland. Sc. Exact et Nat.*, A. Durand, Paris, 1871, p. 426.

4. E. SCHWABACH. *Ber. d. d. Bot. Gesell.*, Berlin, 1899, t. XVII, p. 291.

GNARD (1). Les sulfures qui composent les essences des Crucifères, de certaines Labiées, Liliacées et Ombellifères, forment avec le nitrate d'argent un précipité noir de sulfure d'argent. Les cellules à essence, les écailles incolores du bulbe d'*Allium Cepa* L. présentent un beau précipité noir après traitement par le nitrate d'argent, (durée 1/2 heure à 1 heure). Les coupes bouillies au préalable dans l'alcool ne présentent pas cette réaction. On sait que ces sulfures sont solubles dans l'alcool.

La plupart de ces méthodes de recherches microchimiques manquent de précision et ne possèdent pas à proprement parler de valeur chimique, comme l'écrivaient en 1908, MM. CHARABOT et L. GATIN (2) : « *En aucune façon nous ne possédons de réactifs microchimiques permettant de déceler, avec certitude, la présence de tel ou tel des nombreux et très divers corps constituant les huiles essentielles. Il en résulte que toute étude botanique de la sécrétion et de la localisation des matières odorantes ne satisfait pas complètement l'esprit, et que bien souvent lorsque nous voudrions tirer des travaux de microchimie toutes les conséquences qu'ils comporteraient, nous nous trouverons arrêtés par le doute dans lequel nous laisse l'imperfection relative des procédés d'étude employés.* Nous établirons une exception en faveur des recherches que quelques savants et notamment M. GUIGNARD ont effectuées avec méthode

1. GUIGNARD, *loc. cit.*, pp. 385 et 447.

2. CHARABOT et GATIN, 1908, *loc. cit.*, p. 165 et p. XIV.

sur un certain nombre d'essences formées d'individus chimiques bien distincts et provenant du dédoublement de glucosides. »

Remarquons que la connaissance de composés aromatiques chimiquement définis est le seul et indispensable guide dans la recherche microchimique. Grâce à des méthodes de travail précises et sûres, M. CHARABOT aidé de MM. HÉBERT et LALOUÉ, a pu *rechercher, séparer et doser* des composés aromatiques bien définis. Cette précision dans la chimie de certains produits odorants permet désormais l'étude et la recherche de ceux-ci chez les plantes par des méthodes microchimiques.

CHARLES GATIN, que la question passionnait, aimait à m'entretenir de ce chimisme du parfum des plantes odorantes.

C'est lui qui m'avait orienté vers ce sujet et qui, d'accord avec M. le Professeur PERROT, avait établi le plan de ce travail, et guidé mes débuts. Ensemble nous devions faire de nombreuses recherches et notre collaboration devait devenir de plus en plus étroite.

Mais ce grand chercheur à l'intelligence si belle, au cœur si bon s'est donné à la France avec tout son courage et toute sa fougue ; maintenant il fait partie de cette élite qui s'est offerte en holocauste sur l'autel de la Patrie. Il est mort en héros devant *Douaumont* à la tête de ses Zouaves, dans une des phases sanglantes de cette épopée qui a nom : *Verdun*.

Qu'il me soit permis d'apporter un pieux souvenir au jeune Maître et Ami disparu et d'évoquer sa grande et belle âme. Jamais je ne me consolerais de sa perte,

et maintenant qu'il n'est plus là, je me sens bien faible pour continuer les travaux que nous devons exécuter en commun.

Si dans la série des recherches que je poursuis, j'arrive à des conclusions intéressantes, qu'une grande part en revienne à GATIN puisqu'il fut en même temps que mon ami, mon Maître.

Que M. le Professeur PERROT reçoive aussi le témoignage de ma reconnaissance, car c'est en suivant ses conseils toujours empreints de sollicitude que j'ai pu poursuivre mes recherches et conduire à bien ce travail.

MÉTHODE DE RECHERCHE
DU
MÉTHYLANTHRANILATE
ET DE
L'ANTHRANILATE DE MÉTHYLE

Le *Méthylantranilate de Méthyle* et l'*Anthranilate de Méthyle* sont les éthers de deux acides gras aromatiques de la série non terpénique : acide méthylantranilique et acide anthranilique.

Ils font partie du petit groupe de composés azotés dits « dérivés d'acides amidés » qui comprend, outre les deux corps cités, la damascénine et son dérivé, la méthyl damascénine.

Chimiquement, l'antranilate et le méthylantranilate de méthyle se recherchent de la même façon. « On ajoute l'huile essentielle qui contient l'un de ces principes odorants à un mélange de 1 volume d'acide sulfurique concentré et de 5 volumes d'éther. Des cristaux de la base se forment, que l'on lave à l'alcool et à l'éther. On met le produit en liberté en décomposant par la soude les cristaux lavés. Pour l'identifier il faut déterminer les caractères physiques du corps et faire l'étude du produit de saponification : l'acide anthranilique, qui fond à 144-145° ; enfin il faut également dé-

terminer l'indice de méthyle du chloroplatinate qui donne l'éther méthylantranilique. Le procédé d'extraction donné par E. CHARABOT est le suivant : « On agite 60 parties d'essence avec 250 parties d'acide sulfurique à 25 %. On sépare la solution sulfurique, on la filtre, et on l'additionne de soude jusqu'à réaction alcaline, en ayant soin de refroidir avec de la glace. L'éther de l'acide amidé combiné avec l'acide sulfurique est ainsi remis en liberté. »

Il suffit de l'extraire au moyen de l'éther et de le purifier par cristallisation, en refroidissant sa solution dans l'éther de pétrole à — 15°.

L'antranilate et le méthylantranilate de méthyle étant généralement accompagnés d'autres éthers MM. A. HESSE et O. ZEITSCHEL (1) ont proposé un procédé de dosage reposant sur la propriété importante que possèdent l'antranilate de méthyle et le méthylantranilate de méthyle de donner *avec l'acide sulfurique des sulfates peu solubles dans l'éther*. Voici le procédé :

On dissout environ 25 grammes d'essence dans deux à trois parties d'éther anhydre. On refroidit dans un mélange réfrigérant au moins à 0° et on ajoute goutte à goutte, en agitant, un mélange bien refroidi d'acide sulfurique (1 vol.) et d'éther (5 vol.). Ensuite on ajoute ce dernier jusqu'à ce qu'il ne se forme plus de précipité. L'antranilate ou le méthylantranilate est précipité en totalité sous forme de sulfate.

1. A. HESSE et O. ZEITSCHEL. *Berichte d. d. chem. Gesell.*, 1901, t. 34, p. 296.

On sèche ce précipité en le recevant sur un petit entonnoir muni d'un tampon de coton de verre et en le lavant à l'éther anhydre. On peut le peser pour en déduire le poids d'anthranilate ou de méthylantranilate de méthyle ; ou bien on dissout le précipité dans l'eau et on fait un titrage de l'acide sulfurique au moyen de la potasse demi-normale ; on en déduira la proportion centésimale du dérivé amidé.

De l'examen de ces procédés de recherche et de dosage, nous retenons ces deux propriétés que possèdent les deux bases dont nous nous occupons :

1° Formation de cristaux de sulfates d'anthranilate ou de méthylantranilate de méthyle sous l'action d'un mélange d'acide sulfurique et d'éther.

2° Les sulfates obtenus sont très peu solubles dans l'éther.

Ces deux propriétés sont suffisantes pour servir de base à la recherche microchimique de ces deux corps. On peut, entre lame et lamelle, produire ces sulfates, les laver à l'éther, et procéder à une étude rigoureuse de leurs caractères. Cette étude constituera l'identification du corps. Après examen de diverses réactions qui pourraient servir à l'identification, nous nous sommes arrêté à la méthode suivante :

1° Etude des formes cristallines au microscope ;

2° Etude des caractères de solubilité de ces cristallisations ;

3° Etude comparée des formes cristallines et des caractères de solubilité de ces formes, avec celles obtenues en faisant agir le réactif sulfurique (acide sulfu-

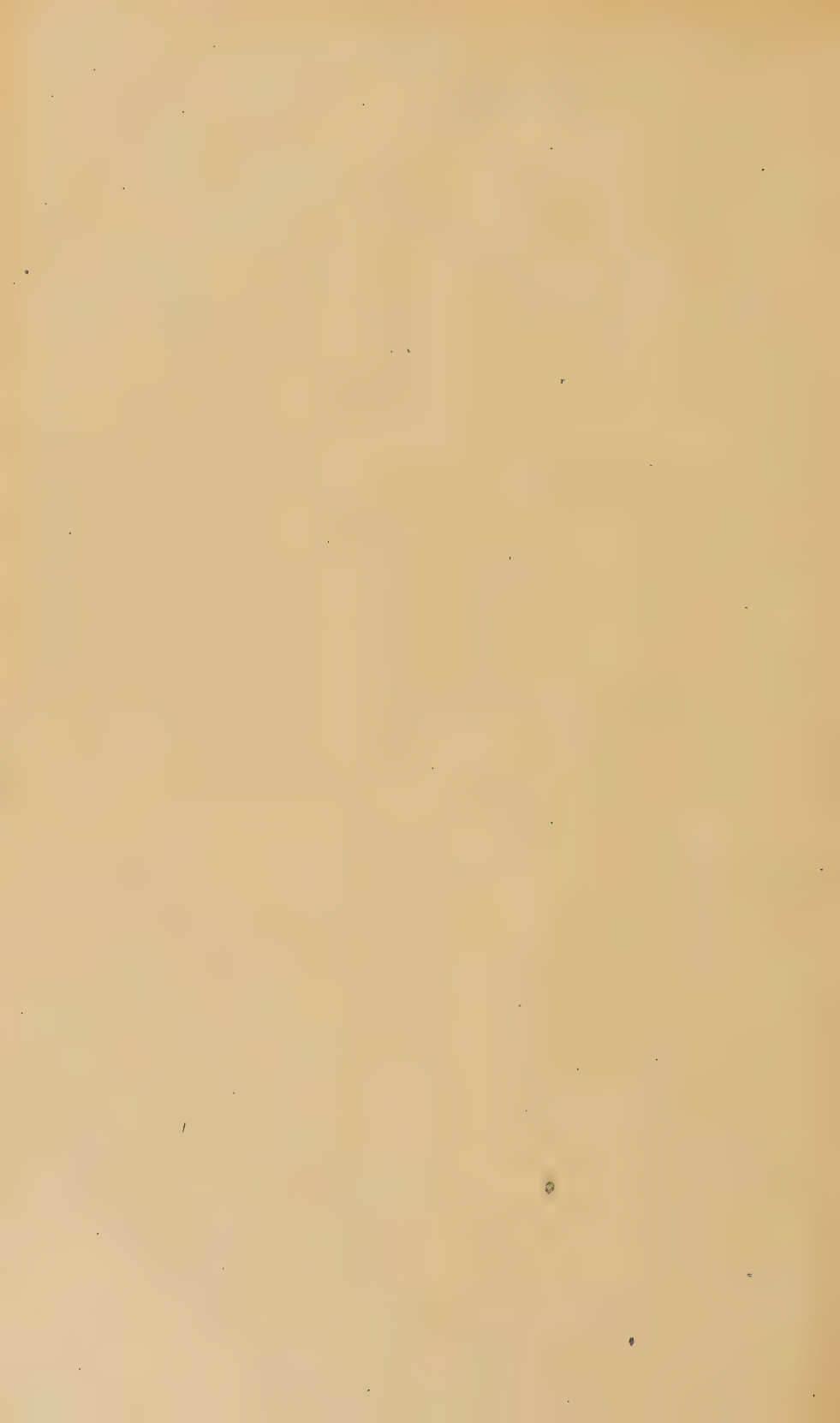
rique et éther) sur des corps déterminés, qu'on a coutume de rencontrer chez les plantes. L'asparagine, les sels de calcium et de potassium étant les plus répandus, nous avons procédé à leur étude microchimique comme nous avons fait celle des anthranilate et méthylanthranilate de méthyle.

Nous avons adopté comme solvants caractéristiques les suivants :

Eau distillée, alcool, xylol, acide acétique, acétone, éther seul, acide sulfurique seul, le réactif sulfurique lui-même, la glycérine, les solutions saturées des sels de calcium et de potassium.

PREMIÈRE PARTIE

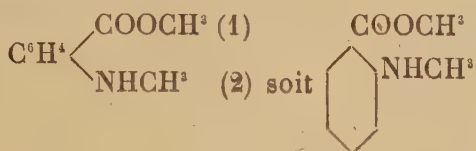
RECHERCHE DU MÉTHYLANTHRANILATE
DE MÉTHYLE



CHAPITRE PREMIER

ÉTUDE MICROCHIMIQUE DU MÉTHYLANTHRANILATE DE MÉTHYLE

Le méthylantranilate de méthyle a pour formule :



EUG. CHARABOT (1) a montré qu'il est principalement contenu dans l'essence de feuilles de *mandarinier*, où il peut exister dans la proportion de 95 %. C'est de ce chimiste distingué que nous tenons le produit pur qui a servi à notre étude. Il a été signalé aussi dans l'essence de la Rue (*Ruta graveolens* L.), dans l'essence des feuilles de bergamotier (*Citrus Aurantium* L. subspéc. *Bergamia*), dans l'essence de mandarine (2) (*Citrus nobilis* Lam.). Il n'est donc connu jusqu'ici que chez des plantes appartenant toutes à la famille des Rutacées (3).

M. EUG. CHARABOT a donné ses caractères physiques :

1. EUG. CHARABOT. *Bull. Soc. chim.*, Paris 1902 ; (3), t. XXVII. p. 1117.
2. H. WALBAUM, *J. f. prakt. chem.*, Leipzig, 1900 ; (2), t. LXII, p. 135.
3. CHARABOT et GATIN, *loc. cit.*

Les solutions possèdent une belle fluorescence violacée. Par saponification on obtient l'acide méthylantranilique, fusible à 179°, dont l'indice de neutralisation est 371,6 et dont le dérivé acétylé fond à 186°.

ÉTUDE DES CRISTALLISATIONS DU SULFATE DE MÉTHYLANTRANILATE DE MÉTHYLE

Réaction sulfurique. — Sur une goutte de méthylantranilate de méthyle portée par une lame, on fait agir une petite partie d'un réactif sulfurique que nous avons ainsi préparé :

1 volume d'acide sulfurique pur,
4 volumes d'éther ordinaire.

On recouvre d'une lamelle et on suit au microscope la réaction. On voit se former presque simultanément de grandes aiguilles prismatiques très minces et de minuscules cristaux appartenant à la même forme géométrique (fig. 1 et 2). Toutefois, les aiguilles sont toujours de seconde formation. Parfois au milieu des amas cristallins on remarque des cristallisations en forme de fers de lance (fig. 3); enfin on observe de gros cristaux isolés comme il en est indiqué dans la figure 1 en *c* et *p*. Tous ces cristaux, sauf les derniers, présentent une grande tendance à se grouper et à former des arborescences.

Nous avons vu que pour rechercher macroscopiquement le méthylantranilate de méthyle et les combinai-

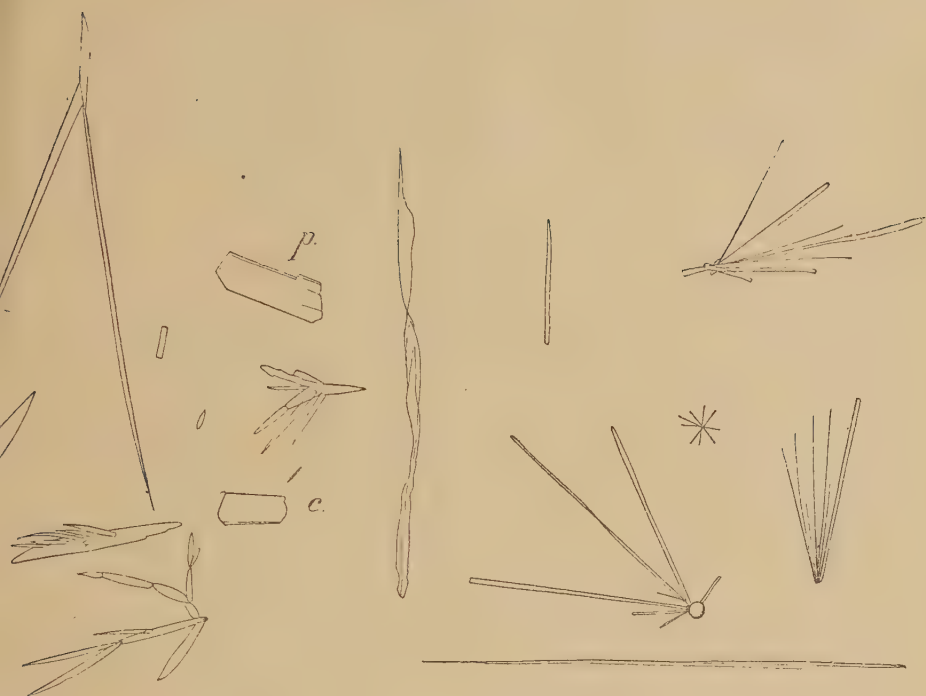


Fig. 1. — Action du réactif sulfurique sur le méthylantranilate de méthyle. Cristaux de première formation. En p et c, gros cristaux isolés, très rares.



Fig. 2. — Étude des cristallisations diverses.

- a) Formes isolées par la dissolution dans l'acétone.
- b) Forme de recristallisation après la dissolution dans le xylol.
- c) Forme de recristallisation après dissolution dans l'acide sulfurique. Ils sont analogues à ceux qui apparaissent au début de la réaction sulfurique sur le méthylantranilate.
- d) Forme de recristallisation après dissolution dans l'alcool.

sons analogues dans les huiles essentielles, M. Eug. CHARABOT proposait une méthode très analogue.

« On ajoute à l'huile essentielle un mélange de 1 volume d'acide sulfurique concentré et de 5 volumes



Fig. 3. — Cristaux de sulfate de méthylanthranilate de méthyle formés tardivement.

d'éther ; des cristaux se forment qu'on lave à l'alcool et à l'éther. »

Ce procédé nous a guidé au milieu de nos recherches microchimiques, mais nous avons trouvé que la proportion de 1 volume d'acide sulfurique et de 4 volumes d'éther était plus heureuse. Pour laver les cristallations obtenues, avant de passer à l'étude de leurs caractères de solubilité, on fait délicatement couler de l'éther entre la lame et la lamelle, en attirant du côté opposé le mé-

lange réactif sulfurique et méthylantranilate de méthyle non modifié avec du papier à cigarettes qui le boit doucement. Le papier Joseph boit trop vite et entraîne brutalement les cristallisations hors de la préparation.

Caractères de solubilité des cristaux obtenus.

On doit exécuter le lavage à l'éther soigneusement, car on ne peut songer à faire une étude rigoureuse de la solubilité des cristaux s'il reste des traces de réactif. Les cristaux se dissolvent assez lentement dans l'eau distillée ; et même cette dissolution est très laborieuse. Après plusieurs études microscopiques attentives, nous avons constaté que l'eau ne mouille pas les cristaux. Ceux-ci doivent donc rester enveloppés d'une couche de méthylantranilate ou peut-être d'une forme de sulfate de méthylantranilate aux dépens de laquelle ils continuent à se nourrir et qui, à cause peut-être de sa haute proportion d'essence, demeure insoluble dans l'eau. En tout cas, l'eau se comporte vis-à-vis des cristaux comme lorsqu'on la met en contact d'une matière grasse : elle se retire aussitôt. En faisant passer entre lame et lamelle du réactif sulfurique, on arrive à détruire cette enveloppe non miscible à l'eau par dissolution, mais il faut agir avec adresse et rapidité, parce que les cristaux se dissolvent dans l'acide sulfurique. Aussitôt qu'on a lavé en quelque sorte la préparation avec du réactif sulfurique, on fait vite passer d'abord de l'éther à plusieurs reprises, puis de l'eau qui dissout lentement les cristallisations.

Dans ces observations microchimiques, il est important de toujours noter minutieusement le début et la fin de chaque réaction, comme on va le voir. Lorsqu'on laisse s'évaporer l'eau dans laquelle se sont dissous tous les cristaux, on les voit se reformer lentement et on assiste à la genèse de cristaux qu'on n'avait pas vus et qui sont des plus importants *car c'est sous cette forme*, qu'on retrouve le sulfate de méthylanthraniolate contenu dans l'essence de mandarinier. (Feuille, écorce des fruits.) Ces aiguilles sont d'un brun jaunâtre, recourbées et enchevêtrées en paquets (voir les figures relatives à l'essence de mandarine.)

Sur une préparation ayant subi l'action de l'eau et complètement desséchée, on observe, outre les cristaux, de petits points brillants avec des gouttelettes plus grosses, que nous avons d'ailleurs identifiés avec le liquide non miscible à l'eau qui enrobe étroitement les cristaux, dans la première phase de la réaction.

Les cristaux de sulfate obtenus se dissolvent aussi lentement dans l'alcool absolu, très lentement dans le xylol. Le liquide résultant de cette dissolution a une belle couleur verte. Mais, fait important, les plages verdâtres de cette dissolution sont toujours sur *le pourtour de la préparation ou en dehors de la lamelle*. Cette coloration ne se produit donc *qu'en présence de l'air*.

Caractères de solubilité. — Les cristaux sont solubles très rapidement dans l'acide acétique cristallisable. Les résultats de cette dissolution, après l'évaporation de l'acide en excès, sont des masses cristallines incolores sans formes définies, rappelant cependant un peu l'as-

pect des cristaux avant l'action de l'acide acétique, mais toujours contenues dans une large atmosphère liquide verdâtre, et de très petits cristaux isolés à contours réguliers, incolores, quelquefois accompagnés d'une atmosphère verdâtre (fig. 2 à gauche).

Les cristaux sont solubles aussi dans l'acétone.

La marche de la dissolution, qui est lente, mais qui est régulière, nous a permis d'observer au centre des masses cristallines ces formes en fer de lance (fig. 2, *d*) Après la dissolution et après retrait de l'acétone en excès, on retrouve des cristaux réguliers très petits, incolores, quelques-uns parmi eux, bleu-verdâtres, et des cristaux plats irréguliers plus larges également incolores.

Les cristaux de sulfate de méthylantranilate de méthyle se dissolvent assez rapidement, dans l'acide sulfurique pur comme dans le réactif sulfurique, et surtout dans les solutions saturées de sulfate de potassium et de calcium. Ils se dissolvent également dans la glycérine.

En résumé les cristaux de sulfate de méthylantranilate de méthyle sont solubles dans tous les solvants proposés : eau distillée, alcool, xylol, acide acétique, acétone, solutions saturées de SO^4K^2 et de SO^4Ca , réactif sulfurique SO^4H^2 + éther, SO^4H^2 pur, glycérine pure.

CHAPITRE II

ÉTUDE MICROCHIMIQUE DE LA RÉACTION SULFURIQUE SUR LE POTASSIUM, LE CALCIUM ET L'ASPARAGINE

A. — ÉTUDE DES CRISTALLISATIONS DU SULFATE DE POTASSIUM

Pour rendre cette étude rigoureuse à l'égard de notre méthode de recherches, nous réalisons ainsi la formation des cristaux de SO_4K^2 sur le carbonate neutre de potassium en faisant agir le réactif sulfurique. Nous avons représenté tous les cristaux obtenus qui semblent

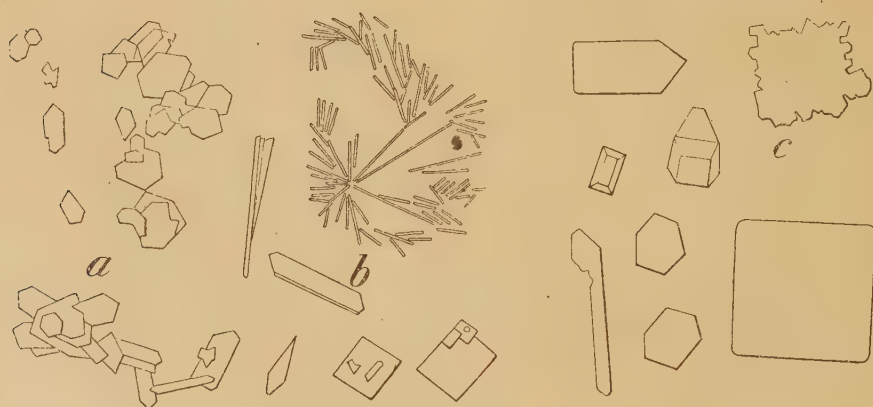


Fig. 4. — Action du réactif sulfurique sur le carbonate neutre de potassium ; tendance des cristaux à s'associer.

- a. Cristaux apparaissant au centre de la préparation.
- b. Cristaux apparaissant sur le pourtour.
- c. Forme des cristaux isolés.

bien être les formes cristallines du sulfate de potassium. Ils sont incolores.

Nous avons tenu à représenter en *a* (fig. 4), la forme cristalline commune au centre de la préparation ; en *b*, celle qui caractérise le pourtour de la préparation, parce que, de même que dans les réactions entre lames et la-

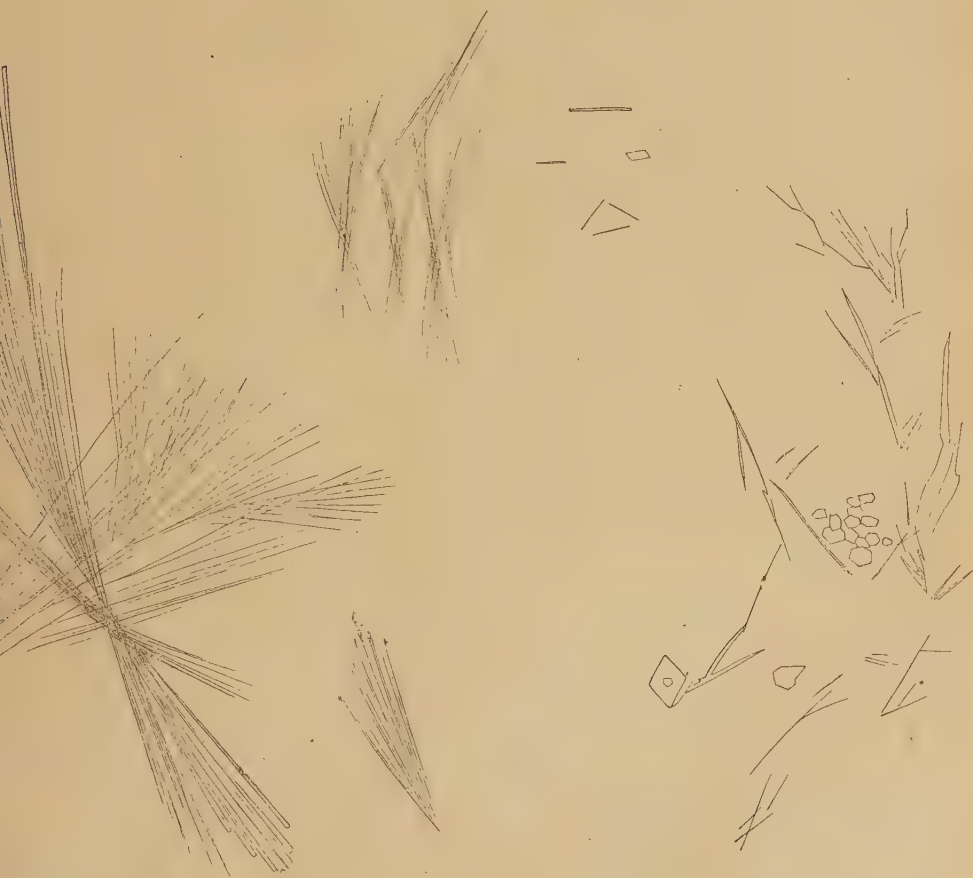


Fig. 5. — Action du réactif sulfurique sur une solution concentrée de chlorure de potassium.

nelles sur le méthylantranilate de méthyle, et sur les essences, il existe toujours une différence entre les cristaux du centre de la préparation et ceux de la périphérie; cela tient évidemment à ce que les conditions physico-chimiques ne sont pas tout-à-fait les mêmes.

Formes cristallines. — Toutes les formes cristallines que prend le sulfate de potassium sont représentées dans les figures 4, 5, 6, 7. Nous devons les comparer



Fig. 6. — Action du même réactif sur une solution très faible de chlorure de potassium.

avec celles qui apparaissent à la suite de l'action du réactif sulfurique sur le méthylantranilate de méthyle et sur l'essence de mandarine.

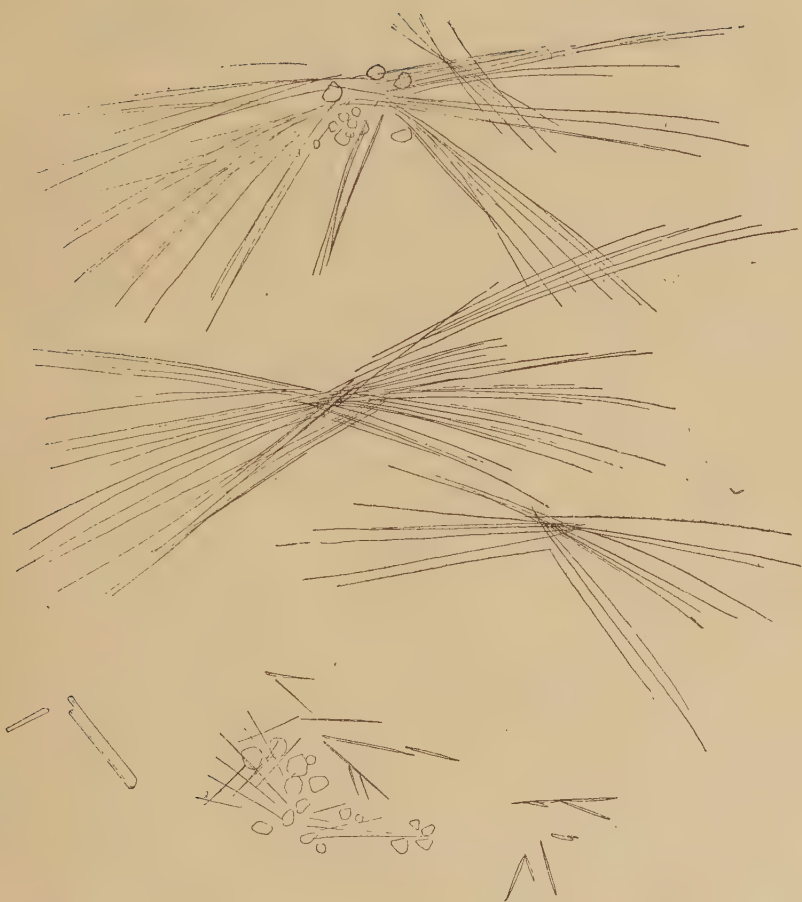


Fig. 7. — Formes de recrystallisation du sulfate de potassium après dissolution dans un de ses solvants.

COMPARAISON DES CRISTALLISATIONS
DU SULFATE DE POTASSIUM
AVEC CELLES DU SULFATE DE MÉTHYLANTHRANILATE
DE MÉTHYLE

Nous voyons qu'on ne pourrait confondre que les tout petits cristaux allongés ou les grandes aiguilles cristallines, mais il ne faut jamais tenir compte de ces petits cristaux : ils représentent des cristaux qui commencent à se former. Quant aux grandes aiguilles, leurs caractères de solubilité suffisent à les distinguer (fig. 8, 9).

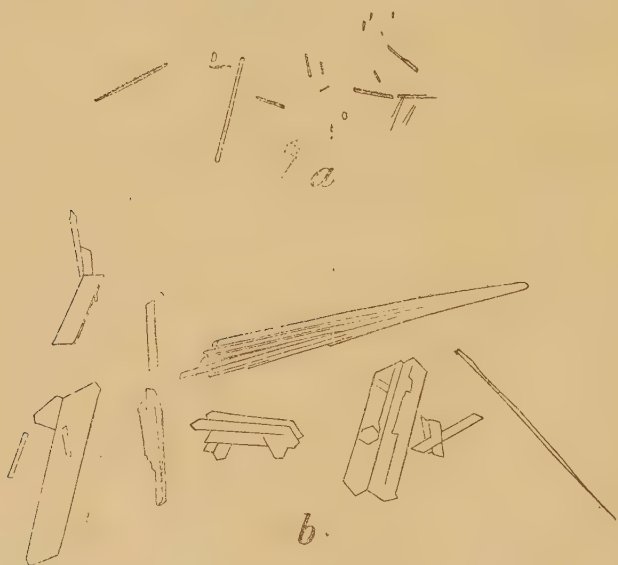


Fig. 8. — Action du réactif sulfurique sur une solution de chlorure de calcium.

a. Cristaux de première formation.

Caractères de solubilité. — Les cristaux de sulfate de potassium ainsi obtenus sont solubles dans l'eau, dans

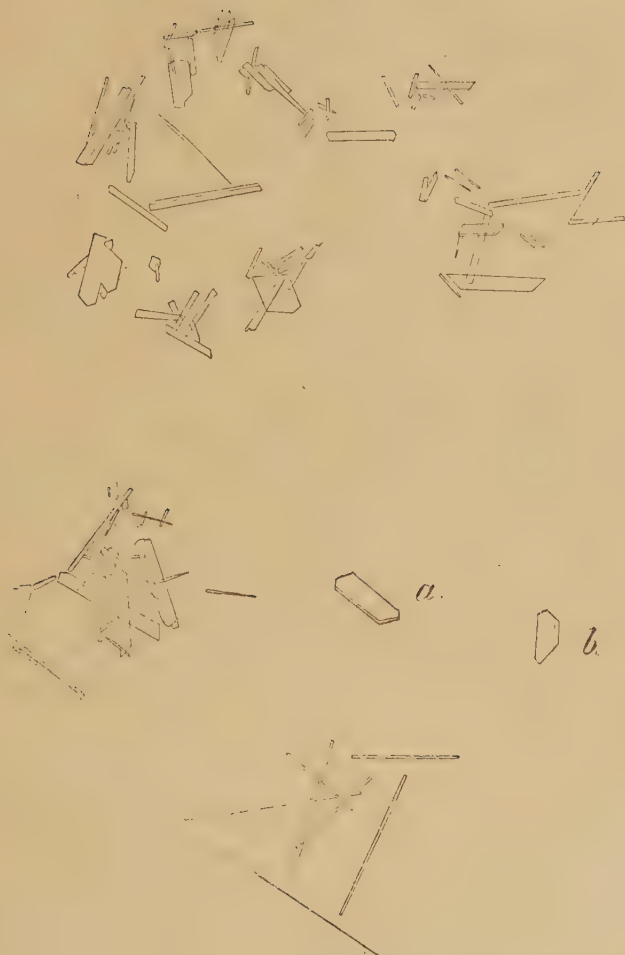


Fig. 9. — Formes de recristallisation du sulfate de calcium,
après dissolution dans ses solvants.
a, forme type ; *b*, forme la plus fréquente.

le xylol et dans la solution de SO_4Ca , lentement dans l'acide sulfurique. Ils sont insolubles dans tous les autres dissolvants proposés. Le tableau qui suit résume ces caractères :

<i>Glycérine</i>	<i>Ether</i>	<i>Sol. SO^4Ca</i>	<i>Réact. sulf.</i>	<i>Eau</i>
Non soluble	Non soluble	Soluble	Soluble	Soluble
<i>Alcool absolu</i>	<i>Acétone</i>	<i>Xylol</i>	<i>Acide acétique</i>	<i>SO^4H^2</i>
Non soluble	Non soluble	Soluble	Non soluble	+ soluble

B. — ÉTUDE DES CRISTALLISATIONS DU SULFATE DE CALCIUM

Nous avons procédé à cette étude de la façon suivante : sur une lame on porte quelques grains ou une petite portion de carbonate de calcium pur. On recouvre d'une lamelle et on fait passer un peu du réactif sulfurique à l'éther. Nous réalisons à peu près les conditions de l'étude expérimentale qui a servi à la recherche du sulfate de méthylanthranilate chez les plantes à dérivés amidés. Ces conditions sont encore plus complètes si nous faisons passer avant le réactif sulfurique un peu d'eau dans laquelle les cristaux du sulfate du commerce se dissolvent (fig. 10).

Ils se reforment au passage du réactif sulfurique. L'action du réactif sulfurique sur le chlorure de calcium donne les formes cristallines représentées dans la figure 8. La formation est extrêmement lente.

Formes cristallines. — On voit qu'elles ne présentent jamais ni la netteté ni l'achèvement des formes propres aux sulfates de méthylanthranilate et de potassium.

Il n'existe pour ainsi dire jamais de cristaux isolés, aussi les aiguilles qui d'ailleurs n'atteignent jamais la longueur, ni la minceur de celles des corps précédents, sont-elles toujours accompagnées, et généralement dans des sens presque parallèles à leurs grands axes, de rudi-

ments d'aiguilles ou de cristaux qui commencent.

Les groupes de cristaux offrent une complexité telle, même les groupes de cristaux peu nombreux, qu'il est difficile de séparer leurs individualités. Notre figure en donne une faible idée. Nous avons essayé d'ailleurs d'y reconstituer le plus possible chaque individu cristallin afin que la comparaison avec tous les cristaux que nous avons à étudier soit plus facile.

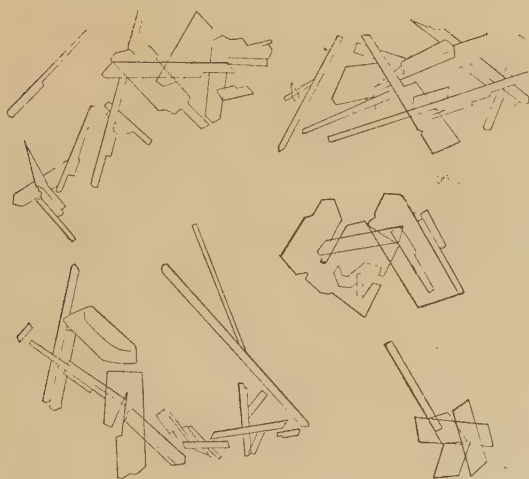


Fig. 10. — Action du réactif sulfurique sur une solution très faible de sulfate de calcium.

Les cristaux s'individualisent mieux lorsqu'ils se reforment après leur dissolution dans un des solvants du sulfate de calcium. Comparons avec les formes cristallines relevées dans la formation du sulfate de méthylanthranilate. Seule, la forme représentée en p figure 1 pourrait appartenir au sulfate de calcium. Dans ce cas, les caractères de solubilité servent à l'identification.

Nous avons étudié minutieusement la solubilité des cristallisations de sulfate de calcium dans les dissolvants proposés au début de nos recherches.

Caractères de solubilité. — Les cristaux de sulfate de calcium sont très lentement solubles dans *l'eau*, dans *l'acide sulfurique pur* et dans la *solution de sulfate de potassium*. Ils sont insolubles dans *l'alcool*, le *xytol*, *l'acétone*, *l'acide acétique*, *l'éther*, le *réactif sulfurique*, la *glycérine*.

C. — ÉTUDE DES CRISTALLISATIONS OBTENUES PAR L'ACTION
DU RÉACTIF SULFURIQUE SUR L'ASPARAGINE

L'asparagine cristallisée soumise à l'action de l'acide sulfurique se dissout ; en ajoutant de l'éther on obtient un précipité blanc visqueux formant sur le filtre un enduit glacé. L'observation au microscope montre qu'il est formé de minuscules cristaux de formes mal définies.

Ce précipité lavé à l'éther et porté dans des tubes à essai se montre soluble dans l'eau et insoluble dans le réactif sulfurique.

Porté sur une lame et soumis à l'action prolongée de l'éther, le précipité visqueux se résout en un liquide incolore parfaitement transparent et contenant des cristaux isolés qui ont été représentés (fig. 11). Avec le temps, il se forme entre lame et lamelle les cristaux représentés (fig. 12), parmi lesquels il faut remarquer les formes en fuseau qui sont d'ailleurs très rares. Ils sont tous insolubles dans l'éther, mais solubles dans

l'alcool, *sauf les cristaux fusiformes*. Ces derniers ont donc ce caractère commun avec ceux du sulfate de méthylantranilate, d'être solubles dans l'alcool absolu.

De plus, tous les cristaux, autres que ceux en fuseau,

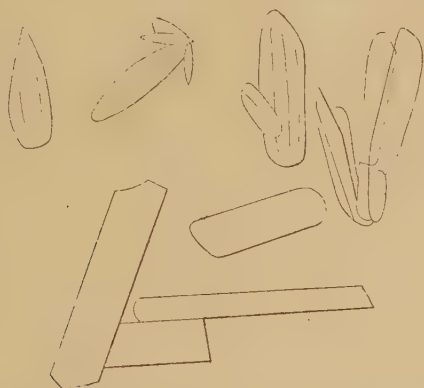


Fig. 11. — Formes particulières prises par le sulfate d'asparagine, après l'action du réactif sulfurique sur l'asparagine en présence d'une grande quantité d'éther.



Fig. 12. — Formes cristallines variées résultant de l'action lente du réactif sulfurique sur l'asparagine.

se montrent solubles dans l'eau, le xylol, l'acétone, l'acide acétique, dans le réactif sulfurique et dans les solutions saturées de $\text{SO}^4 \text{Ca}$, $\text{SO}^4 \text{K}^2$; ces caractères sont communs avec ceux du sulfate de méthylanthranilate. Mais, remarque importante, aussitôt la lamelle enlevée, c'est-à-dire aussitôt les cristaux exposés à l'air, les cristaux disparaissent à cause de leur extrême solubilité dans l'eau. On n'obtient pas cette disparition des cristaux du sulfate du méthylanthranilate qui se dissolvent toujours plus lentement dans l'eau.

Caractères de Solubilité. — En résumé, la solubilité est positive vis-à-vis de l'eau, de l'alcool (sauf ceux en fuseau), du xylol, de l'acétone, de l'acide acétique, dans le réactif sulfurique, et dans les solutions saturées de $\text{SO}^4 \text{Ca}$, $\text{SO}^4 \text{K}^2$, négative vis-à-vis de l'éther pur, absolument comme le sulfate de méthylanthranilate de méthyle.

Identification. — Il existe seulement trois moyens d'identification.

1° Le premier est basé sur le degré de solubilité dans l'eau; dans ce liquide la solubilité du sulfate d'asparagine est très grande; celle du sulfate de méthylanthranilate est très faible.

2° Sur une préparation sur lame non recouverte de sa lamelle, les cristaux obtenus avec l'asparagine disparaissent, au contraire, les cristaux obtenus avec le méthylanthranilate résistent très longtemps.

3° Les formes cristallines elles-mêmes peuvent offrir certaines particularités qui permettent déjà l'identification.

Il y a des formes propres au méthylantranilate ou plutôt à la réaction sur le méthylantranilate : telles sont les aiguilles brun-jaunâtre courbes, en paquets.

Tableau des solubilités.

Le tableau suivant résume les caractères de solubilité des sulfates cristallisés du méthylantranilate de méthyle, du potassium, du calcium, de l'asparagine, vis-à-vis des solvants que nous avons proposés.

DISSOLVANTS	Sulfate de méthylantranilate	Sulfate de potassium	Sulfate de calcium	Sulfate d'asparagine
Eau.....	+	+	+	+
Alcool.....	+	—	—	+
Xylol.....	+	+	—	+
Acide acétique.....	+	—	—	+
Acétone.....	+	—	—	+
Solution saturée SO_4K^3 ...	+	—	+	+
Solution saturée SO_4Ca ...	+	+	—	+
Réactif sulfurique.....	+	—	—	+
Acide sulfurique pur....	+	+ —	+ —	+
Glycérine pure.....	+	—	—	—
Ether.....	—	—	—	—

D. — ÉTUDE MICROCHIMIQUE DE CES DIVERS SULFATES
OBTENUS SIMULTANÉMENT

Nous connaissons maintenant à peu près les diverses formes cristallines et l'évolution de la réaction sulfurique en ce qui concerne séparément le méthylantra-

nilate de méthyle, le potassium, le calcium, et l'asparagine. Nous connaissons aussi leurs caractères de solubilité,

Mais l'étude de ces sulfates, au point de vue de nos recherches est loin d'être suffisante. En effet, tout d'abord la réaction a lieu sur une lame de verre et non au sein du protoplasme végétal. Cette différence de milieu a certainement pour effet d'offrir une réaction n'approchant que de très loin celle qui se fera au sein du tissu végétal. En second lieu, il se peut que plusieurs matières minérales, en particulier celles que nous avons spécialement envisagées, se trouvent réunies ensemble et leur présence, soit par parties, soit en totalité, modifie évidemment la physionomie et les résultats de la réaction.

Il y donc lieu de procéder maintenant à l'étude de la formation simultanée de ces sulfates.

Étude des cristallisations de sulfate de potassium et de sulfate de méthylanthranilate obtenues simultanément.

Nous avons réalisé ainsi les conditions de l'étude :

1° On fait sur une lame un mélange de méthylanthranilate de méthyle et de chlorure de potassium en solution très diluée, puis on fait agir un peu de réactif sulfurique, on obtient ainsi les cristallisations propres aux deux sulfates et *de plus* les vagues arborescences figurées en *a* (fig. 13) avec de grands prismes solubles dans l'alcool. Les cristallisations, parfaitement incolores,



Fig. 13. — Action du réactif sulfurique sur un mélange de chlorure de potassium et de méthylanthranilate de méthyle.

a, cristaux insolubles dans l'alcool absolu.

b, cristaux solubles dans l'alcool absolu.

sont insolubles dans l'alcool. Si maintenant on abandonne des séries de préparations ainsi faites, à l'abri de



Fig. 14. — Réaction lente ; autres aspects cristallins des deux sulfates.

l'humidité, durant des temps variés, on a les cristaux figurés en *a* (fig. 14), insolubles dans l'alcool ; les cristaux petits, jaunâtres surtout nombreux au pourtour des préparations et qui sont aussi représentés dans la figure 14, se sont dissous dans l'alcool.

La dissolution n'est pas rapide, et il y a formation de gouttelettes jaunâtres, pâles, qui rappellent le produit de la réaction sulfurique sur le méthylanthranilate de méthyle. A l'évaporation il se forme des cristaux identiques à ceux observés avant la dissolution, mais qui sont cette fois entourés *d'un orbe* vert jaunâtre, parfois *bleu vert*, couleur caractéristique des solutions du méthylanthranilate de méthyle.

Une préparation a donné ces mâcles et ces arborescences représentées dans la figure 15 avec de petits fu-



Fig. 15. — Formes cristallines apparues au bout de 4 jours.

seaux. L'action de l'alcool sur ces cristallisations incolores a été nulle. Elle était nulle aussi sur les aiguilles analogues à celles des figures 13 et 14 qui ont apparu dans

une autre préparation. Sur une autre série enfin, qui avait été gardée quatre jours dans une chambre de dessication avec de l'acide sulfurique, on a obtenu les résultats suivants :

1° Cristaux isolés ou associés, verdâtres, grâce au liquide qui les enrobe, insolubles tous dans l'alcool (fig. 15).

2° Des aiguilles très fines associées, incolores, insolubles dans l'alcool et de grandes aiguilles plus fortes, solubles dans l'alcool.

3° Dans des plages de liquide jaunâtre qui est manifestement du réactif sulfurique en excès, de petites aiguilles et des masses à contours de plus en plus réguliers, solubles dans l'alcool.

En résumé, dans cette réaction double, *tous les cristaux qui se sont montrés solubles dans l'alcool appartiennent au sulfate de méthylanthranilate*. Tout ce qui s'est montré insoluble dans ce liquide est du sulfate de potassium. Ce mélange a donné lieu à quelques nouvelles formes cristallines et à de nouveaux aspects de la réaction. En particulier, *les cristallisations du sulfate de méthylanthranilate sont très rares*, et cela permet de prévoir qu'elles se montreront rares dans les recherches que nous entreprendrons sur les végétaux.

Étude des cristaux de sulfate de calcium et de sulfate de méthylanthranilate de méthyle produits simultanément.

On peut faire cette étude de trois façons :

1° En étudiant les cristaux de sulfates des deux corps mélangés entré lame et lamelle, étude directe où ne

sont pas réalisées les conditions des recherches précédentes.

2°. En provoquant leur formation entre lame et lamelle, à l'aide du réactif sulfurique agissant sur du calcium et sur du méthylantranilate de méthyle.

3° En plaçant sous une même lamelle une trace de méthylantranilate de méthyle et une gouttelette de solution très diluée de sulfate de calcium. On réalise ainsi à peu près ce qui se trouve dans la nature, dans les végétaux ; on fait alors passer le réactif sulfurique.

Premier procédé. — La première méthode est un procédé grossier ; il peut tout au plus servir à initier et à habituer aux formes cristallines, et il renseigne directement le débutant sur les caractères de solubilité des deux sulfates, ceux-ci se trouvant séparés. Mais il doit nécessairement, ne pas donner de formes cristallines, et il en sera de même dans le deuxième cas, parce que, dans les végétaux, les conditions physico-chimiques sont tout à fait différentes et ce sont celles du troisième procédé qui les réalisent le mieux. Nous préférons cependant le deuxième procédé, parce qu'il nous a servi pour l'étude séparée, quoique sur une même préparation, du sulfate de méthylantranilate d'une part, du sulfate de calcium d'autre part.

Deuxième procédé. — On obtient des cristaux insolubles dans l'alcool avec des plages également insolubles qu'il faut rapporter au sulfate de calcium, et dans d'autres plages, de petites aiguilles ou des masses non encore caractérisées géométriquement se dissolvant dans l'alcool (fig. 16).

Sur une préparation, le mélange de ces deux corps et la proportion du réactif ont été heureux, ils ont provoqué la formation assez rapide, presque instantanée de



Fig. 16. — Réactif sulfurique agissant sur du calcium pur et sur du méthylantranilate de méthyle.



Fig. 17. — Autre aspect de la réaction. Amas de sulfate de méthylantranilate de méthyle et aiguilles associées de sulfate de calcium. Le cristal isolé appartient également au sulfate de calcium.

ces grands amas cristallins, solubles dans l'alcool et dans l'acide acétique, qu'on retrouvera, après l'action du réactif sulfurique, sur l'essence de mandarine pure (fig. 17).

Après dissolution dans l'alcool, il y a recristallisation (a fig. 18).



Fig. 18. — Même réaction mais au sein d'une solution de sulfate de calcium très diluée. Aiguilles courbes, minces, insolubles dans l'alcool : appartiennent au sulfate de calcium.

a, forme soluble dans l'alcool.

Troisième procédé. — On obtient ainsi les cristaux représentés en b, dans la figure 18. Ce sont des cristallisations typiques qui seront observées dans l'action du réactif sulfurique sur l'essence de mandarine pure ; nous serions donc en présence d'un même corps. Mais comme ces aiguilles sont insolubles dans l'alcool, nous avons donc affaire à des aiguilles de sulfate de calcium.

Notons que, à mesure que pénètre l'éther dans la préparation, ces aiguilles se redressent. Les cristallisations, autres que les aiguilles représentées dans la figure 18, sont solubles dans l'alcool.

Enfin nous avons encore obtenu des cristallisations aplaties et larges également représentées dans la figure 18 (c), mais répondant au même type, et des arborescences sans caractères géométriques, solubles dans l'alcool et qu'il faut considérer également avec la même attention. Remarquons encore que ces cristallisations se sont produites au sein d'une solution de sulfate de calcium très diluée.

En somme, avec le sulfate de calcium dilué, on obtient des cristallisations du sulfate de méthylanthranilate qui sont parfaitement caractérisées. Il semble *bien que le sulfate de calcium favorise, dans une certaine mesure, la formation de ce sulfate sous sa forme cristalline. La présence de sulfate de potassium semblerait au contraire entraver la formation de ces cristaux.*

E. — ESSAI DE RECONSTITUTION DE LA RÉACTION CHEZ LES VÉGÉTAUX

Étude d'un mélange des cristallisations
des sulfates de méthylanthranilate de méthyle,
de calcium, de potassium,
d'asparagine produits simultanément.

Nous avons voulu réaliser une sorte de réaction complexe, dont les conditions approchent celles qui se produisent lorsqu'on opère sur les coupes végétales. Nous

nous trouvons ainsi en présence de cristaux de corps différents, rappelant ceux qui se forment sur une préparation microscopique d'un végétal pourvu de poches sécrétrices ou à cellules sécrétrices, traitée par le réactif sulfurique.

Nous n'avons que faiblement, très faiblement réussi ; sans doute n'avons-nous pas atteint les proportions naturelles, ou même seulement les proportions suffisantes pour provoquer la cristallisation des divers sulfates, proportions qui doivent varier avec chaque corps envisagé.

Nous avons seulement obtenu ces deux formes cristallines dont l'une ne se dissout pas dans l'alcool, tandis que l'autre s'y dissout ; elles appartiennent alors aussi bien à l'asparagine qu'au méthylantranilate (fig. 19).

La forme seule nous permettrait d'en décider. L'examen des cristallisations du sulfate obtenu sur l'asparagine a montré que la forme ne peut appartenir qu'au sulfate de méthylantranilate. Cette difficulté ne peut nous surprendre ; sur les plantes elles-mêmes, bien connues pour leur richesse en méthylantranilate, par exemple le mandarinier, on a maints échecs analogues.

Ce n'est pas sur quatre ou cinq expériences que l'on doit établir ses résultats, vingt même suffisent à peine. Il est possible d'ailleurs que la dixième expérience se montre riche en résultats ; aussi le chercheur doit immédiatement penser à toutes les conditions physiques du moment où il l'a réalisée, afin de chercher à les reproduire.

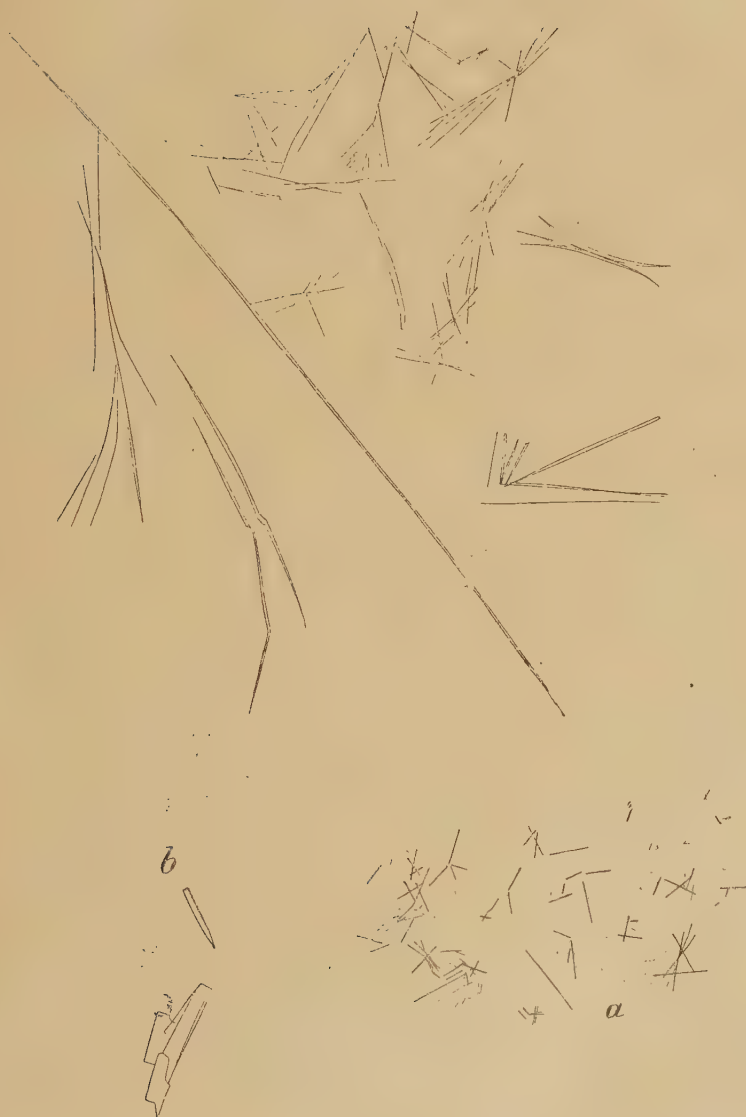


Fig. 19. — Action du réactif sulfurique sur l'essence de mandarine.
a, cristaux de première formation.
b, derniers cristaux formés.

CHAPITRE III

RECHERCHE DU MÉTHYLANTHRANILATE DE MÉTHYLE CHEZ LES PLANTES

1° RECHERCHE DU MÉTHYLANTHRANILATE DE MÉTHYLE CHEZ LE MANDARINIER

Recherche dans l'essence de mandarine.

L'essence est localisée dans les feuilles, dans les tiges et dans les fruits (Ecorce).

L'essence de feuilles et de tiges de mandarinier est formée principalement de méthylanthranilate de méthyle (1) ; elle renferme aussi des composés terpéniques parmi lesquels le LIMONÈNE, qui est très répandu dans la nature, sous ses deux modifications, dextrogyre et lévogyre ; MM. CHARABOT et LALOUÉ (2) ont montré que les tiges sont moins riches en essence que les feuilles, que ces tiges soient jeunes ou vieilles.

Le poids absolu de méthylanthranilate de méthyle contenu dans la feuille augmente durant son développement ; inversement le poids absolu des composés ter-

1. E. CHARABOT. *Bull. Soc. Chim.*, Paris, 1902 ; (3), t. XXVII, p. 1117.

2. E. CHARABOT et G. LALOUÉ. *Bull. Soc. Chim.*, Paris, 1904 ; (3), t. XXXI, p. 195.

péniques diminue. Les expérimentations de CHARABOT et LALOUE (1) ont abouti à ce résultat important : il y a, dans la feuille, formation de méthylantranilate de méthyle et dépense de terpènes. GATIN (2) estimait que ces derniers devaient probablement passer à d'autres organes. Voici comment il traduisait en langue biologique les résultats obtenus par CHARABOT et LALOUE (3) : « Les matières odorantes formées dans la feuille jeune sont en partie dissoutes et gagnent ainsi la tige par osmose ; là, une portion relativement peu soluble est précipitée, alors que le reste continue son déplacement à destination d'autres organes. C'est ainsi que la solubilité de l'essence de tiges va en diminuant, puisque dans cet organe s'accumulent les produits les moins solubles. Quant à la feuille, elle continue de produire des matières odorantes, mais cette production va en se ralentissant. »

Étude microchimique de l'essence de mandarine.

I. ACTION DU RÉACTIF ; *Acide sulfurique + Ether sur l'essence pure.* Si la proportion de réactif est faible, il se forme d'abord des cristaux incolores, mâclés, énormes, qui se groupent de façon à former d'épaisses arborescences rappelant exactement celles qu'on obtiendra avec l'essence de Néroli (fig. 20).

1. E. CHARABOT et LALOUE. *C. R. Ac. Sc.*, Paris, 1904, t. CXXXVIII, p. 1229.

2. CHARABOT et GATIN, *loc. cit.*, p. 221.

3. E. CHARABOT et LALOUE. *Bull. Soc. Chim. Paris*, 1904 ; (3), t. XXXI, p. 884.

Ces gros cristaux sont solubles dans tous les dissolvants du méthylantranilate de méthyle.

En employant des proportions variées des deux corps



Fig. 20. — Réaction obtenue avec une plus faible proportion de réactif sulfurique.

il se forme aussi des aiguilles d'un brun jaunâtre (fig. 21) identiques à celles qu'on obtient en soumettant l'écorce de mandarine au réactif sulfurique, soit par fragments entiers, soit par coupes transversales fraîches (qu'on monte dans le réactif).

Ces aiguilles ont les mêmes caractères de solubilité que les cristaux précédents, caractères résumés dans le tableau suivant.



Fig. 21. — Réaction obtenue avec des proportions graduellement plus élevées (a et b). La formation de ces fines aiguilles recourbées est très lente.

*Tableau de solubilité
des aiguilles et gros cristaux mâclés.*

(La solubilité est marquée par +).

Eau.	+
Alcool.	+
Acétone.	+
Acide acétique.	+
Réactif sulfurique	+
SO ⁴ H ³ pur	.
SO ⁴ K ³ saturé	+
SO ⁴ Ca saturé	+
Glycérine	+ (assez lentement).

Etude des cristaux à formation lente. — Quand on abandonne quelques heures les préparations sur lesquelles on a obtenu les résultats précédents, on assiste à la formation de petites aiguilles assemblées en paquets au sein des grosses gouttelettes d'essence, elles-mêmes isolées au milieu du réactif. Dans la figure 22, en *x*, on



Fig. 22. — Évolution de la réaction ; cristaux formés en dernier lieu.
a, cristaux prismatiques insolubles dans l'alcool et l'acétone.
b, cristaux marquant le terme de la réaction.

a figuré la forme de ces aiguilles : c'est un fuseau mince, extrêmement allongé. A un fort grossissement, il sem-

ble bien que la couleur jaune de ces cristaux n'est pas due à la goutte d'essence qui les contient. Si ce sulfate n'est pas un sulfate identique aux précédents, on ne peut donc les différencier par la couleur, mais seulement par la forme, car il en a tous les caractères de solubilité.

La même préparation, traitée par l'éther, donne des résultats intéressants.

De grosses gouttelettes jaunes où l'on n'observait pas de cristaux, se dissolvent dans l'éther en mettant en liberté de très petits cristaux *incolores*, très fins. Dans la gouttelette, avant qu'elle n'aie été touchée par l'éther, ils sont invisibles, la couleur jaune intense de celle-ci ne pourrait cependant suffire à les masquer ; l'éther active sans doute leur formation.

Au pourtour de la préparation, les amas de grosses aiguilles s'étant dissociés, (ce sont les aiguilles jaune-brun bien caractéristiques du sulfate de méthylanthranilate) il apparaît de longues aiguilles prismatiques droites et de plus grande épaisseur (fig. 22, *a*) absolument identiques à celles qui ont été observées avec le méthylanthranilate de méthyle pur ; elles sont insolubles dans l'acétone, solubles dans l'eau ; insolubles dans l'acide acétique et l'alcool absolu.

Une préparation abandonnée à elle-même pendant quatorze jours montre que toutes les aiguilles jaunes en paquets ont disparu et qu'elles ne persistent plus qu'au pourtour de la préparation où elles sont courtes et en amas serrés. Au centre il n'y a que les cristaux incolores, représentés sur la figure 21 *c* avec les gouttelettes qui les nourrissent, jaunes ou incolores.

*Essais d'isolement des cristaux,
obtenus avec des mélanges d'essence et de réactif
en quantités variables.*

Mélange A. — Essence remplissant les $\frac{2}{3}$ d'un petit tube, on ajoute une petite goutte de réactif sulfurique : pas de cristaux visibles.

Un peu de mélange répandu sur une lame montre l'essence jaune, qui n'a subi aucune action, limitant la portion qui a réagi. Ces gouttelettes jaunes en suspension dans le liquide incolore sont les gouttelettes-mères des cristaux de sulfate de méthylanthanilate.

Mélange B. — Une grosse goutte de réactif dans la même quantité d'essence.

Le mélange est plus homogène ; nombreuses et très petites gouttes de mélange, mobiles autour de grosses sphères renfermant elles-mêmes des gouttelettes de coloration pareille, mais plus grosses, et en outre des gouttes jaune-brun : gouttes-mères des cristaux (*a*, fig. 21).

Mélange C. — Deux grosses gouttes de réactif dans la même quantité d'essence. On observe des cristaux abondants formés aux dépens des gouttes jaune-brun, mais courts (fig. 21 *c*). Ils se résolvent presque tous, après s'être formés, en gouttelettes brunes, mais pour reprendre aussitôt la forme caractéristique. Il se produit de plus des grandes aiguilles en paquets épais. (fig. 21, *b*).

Isolement. — Les cristaux obtenus dans le mélange

sont lavés à l'éther et à la trompe. On les dissout dans l'eau. Résultat : gouttes jaunes en suspension, plus de cristaux, mais une goutte de la solution aqueuse portée sur lame sans lamelle donne rapidement des arborescences à cristaux principaux prismatiques. (fig. 23).

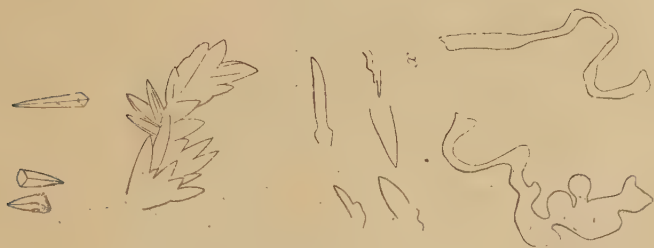


Fig. 23. — Recrystallisation après dissolution dans l'eau distillée.

2° ÉTUDE MICROCHIMIQUE DE L'ESSENCE DE MANDARINE EN PRÉSENCE DU CARBONATE NEUTRE DE POTASSIUM

Sur une lame on porte :

Une goutte d'essence de mandarine, puis une goutte de la solution de carbonate de potassium et une goutte de réactif sulfurique.

Il s'agit dans ce mélange de rechercher les cristaux de sulfate de méthylanthranilate. On recouvre d'une lamelle et on laisse s'opérer la réaction. Au bout d'un temps qui peut varier de un quart d'heure à une demi-journée et plus, on observe les deux systèmes de cristallisations qui sont représentés dans la figure 24.

Dans cette figure, sont groupées toutes les formes insolubles dans l'alcool, qui appartiennent donc au sul-

fate de potassium. Elles sont également insolubles dans l'acide acétique et dans l'acétone. Des amas de gros cristaux semblables à ceux de la figure 23 se sont montrés solubles dans l'alcool, l'acide acétique, l'acétone,

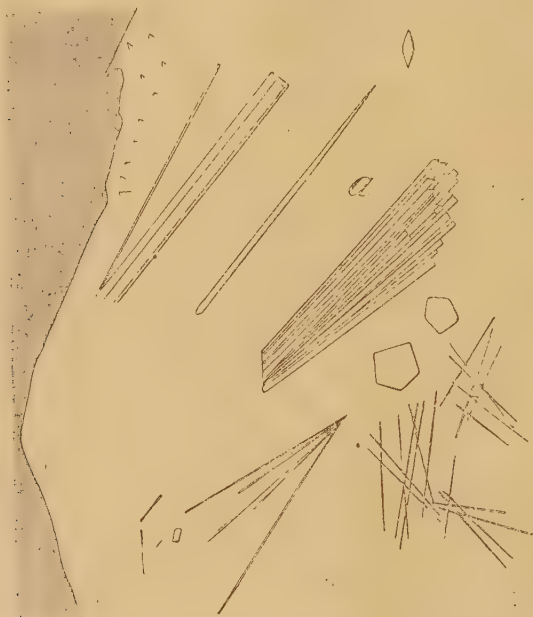


Fig. 24. — Action du réactif sulfurique sur un mélange formé d'une goutte d'essence de mandarine et d'une goutte de solution de carbonate neutre de potassium. La partie grise montre le réactif venu en contact avec le mélange et provoquant la précipitation des sulfates α .

le réactif sulfurique, la glycérine pure, la solution saturée de sulfate de calcium, l'acide sulfurique pur. Ce sont bien des cristaux de sulfate de méthylanthranilate. On ne peut penser au sulfate obtenu sur l'asparagine : 1° à cause de la taille de ces cristaux ; 2° à cause de la forme des recristallisations, signalées en α (fig. 22), après la dissolution dans l'acétone ou dans l'eau, et qui

est bien caractéristique du sulfate de méthylanthranilate. Après la dissolution dans l'acétone, quand il s'agit de l'asparagine, il n'apparaît pas de recristallisations.

3° ÉTUDE MICROCHIMIQUE DE L'ESSENCE DE MANDARINE EN PRÉSENCE DU CHLORURE DE CALCIUM

Comme pour l'étude précédente on dépose sur une lame : une goutte d'essence de mandarine, puis une goutte de chlorure de calcium en solution saturée, et une goutte du réactif sulfurique.

Nous avons ainsi obtenu les cristallisations typiques reproduites dans la figure 25.



Fig. 25. — Réaction sur un mélange d'essence de mandarine et de chlorure de calcium, en solution saturée.

a, cristaux insolubles dans l'alcool, etc.

b, cristaux solubles ; ce sont des cristaux de sulfate de méthylanthranilate de méthyle,

En *a* ce sont des cristaux insolubles dans l'alcool, l'acide acétique, l'acétone, les solutions diluées de sulfate de calcium et de sulfate de potassium, le réactif sulfurique, l'acide sulfurique pur. Il s'agit du sulfate de calcium.

Les formes *b* sont solubles dans tous les dissolvants. Remarquons que ces formes rappellent exactement celles de la recristallisation du sulfate de méthylanthranilate après sa dissolution dans l'acétone.

4° RECHERCHE DU MÉTHYLANTHRANILATE DE MÉTHYLE
DANS L'ESSENCE DE MANDARINE, EN PRÉSENCE DE
L'ASPARAGINE

La réaction est intéressante. On retrouve deux formes typiques appartenant l'une au sulfate d'asparagine (fig. 26 *c*) l'autre, au sulfate de méthylanthranilate de méthyle (fig. 26 *d*).



Fig. 26. — Réaction sur un mélange d'essence de mandarine et d'asparagine.

A coup sûr, les cristaux épais, non encore définis, qu'on voit dans la figure 26 sont encore du sulfate d'asparagine. Quant aux prismes allongés, associés, qu'on observe dans le haut de la même figure, il s'agit de sulfate de calcium, car ils paraissent en offrir tous les caractères de solubilité.

5° RECHERCHE MICROCHIMIQUE DU MÉTHYLANTHRANILATE DE MÉTHYLE DANS L'ÉCORCE DE LA MANDARINE

L'essence de la mandarine s'accumule dans des poches sécrétrices du péricarpe. Dans une coupe, à moins qu'elle ne soit très épaisse, la poche sécrétrice rencontrée est naturellement vidée de son essence, mais on voit les globules d'essence dans les cellules qui limitent la poche et dans celles qui l'avoisinent.

Le « Soudan III » met d'ailleurs en évidence des gouttelettes infiniment petites sur le pourtour de la poche, à l'intérieur des cellules (fig. 27).

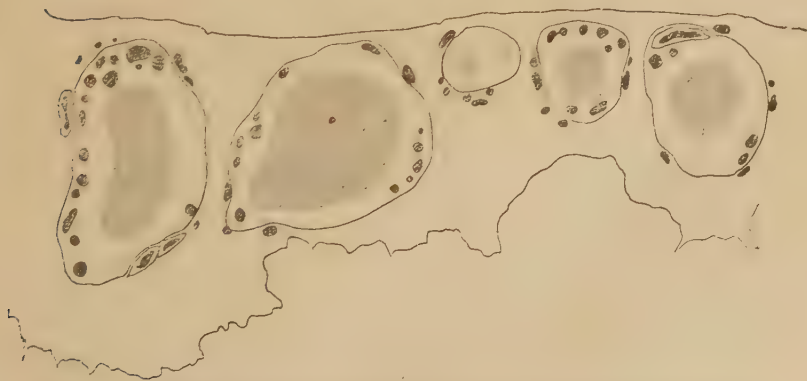


Fig. 27. — Localisation de l'essence dans l'écorce du fruit du mandarinier.

Réaction microchimique. — Dès qu'on fait agir le réactif sulfurique entre lame et lamelle sur une coupe fraîche d'écorce de mandarine, on observe la formation de cristaux tels que ceux qui sont représentés dans la figure 28 ; ils n'ont pas les caractères de solubilité cher-

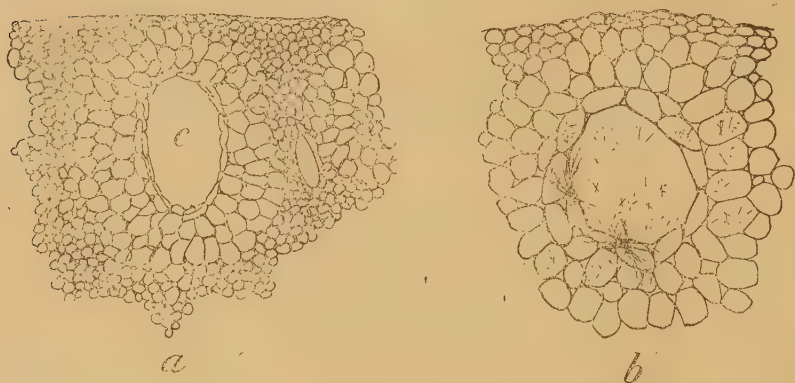


Fig. 28. — Action du réactif sulfurique sur les tissus de l'écorce de la mandarine.

chés (Insolubilité dans l'alcool). Puis apparaissent des amas d'aiguilles bien caractéristiques, amas jaune-brun sur les bords des poches sécrétrices. Dans les coupes épaisses, ces paquets d'aiguilles s'observent aussi dans l'épaisseur des tissus au voisinage des poches sécrétrices (fig. 28).

Ces aiguilles se sont montrées solubles dans l'alcool, l'eau, l'acide acétique et l'acétone, très lentement dans le xylol et la glycérine, très solubles dans l'acide sulfurique, insolubles dans l'éther. Aussi, à cause de leur solubilité dans l'acide sulfurique, la réaction ne réussit-elle pas si le réactif sulfurique-éther est employé en

trop grande quantité. Ce sont des cristaux de sulfate de méthylantranilate de méthyle.

Réaction dans un tube. — Nous avons réalisé trois essais : dans les deux premiers essais, les cristaux de méthylantranilate ne sont pas apparus à cause du réactif en excès.

- L'essai n° 3 représente la proportion favorable du réactif et de l'éther pur (2 parties d'éther pour 1 partie de réactif) dans lequel les cristaux cherchés ne se dissolvent pas. Le culot de ce tube contenait des aiguilles jaunes en amas, caractéristiques, identiques à ceux de la recherche précédente.

A côté de ces cristallisations du sulfate de méthylantranilate de méthyle, il existe toujours plusieurs formes cristallines dont la plupart appartiennent au sulfate de calcium et au sulfate de potassium. Aussi était-il logique pour étudier le méthylantranilate de méthyle sous la forme de son sulfate, de le dissoudre dans un mélange de sulfate de calcium et de potassium en cherchant à reproduire les conditions naturelles. On sait que dans la nature les sels libres de calcium sont toujours dominants.

Remarque. — Il est très important de remarquer l'absence, dans l'écorce de mandarine, des grosses cristallisations que nous avons obtenues avec le méthylantranilate de méthyle pur, puis avec l'essence de mandarine pure et qui étaient les formes caractéristiques du sulfate de méthylantranilate. On peut se demander pourquoi cette absence de grosses formes cristallines ? Sans doute parce que les quantités de méthylantrani-

late de méthyle contenues dans les coupes sont trop faibles.

6° RECHERCHE DANS LA FEUILLE DU MANDARINIER

L'essence se trouve aussi localisée dans des poches sécrétrices et au voisinage de celles-ci, dans des cellules, sous la forme de petits amas jaune-brun, très apparents.

Dans des proportions favorables de réactif (et ces proportions sont difficiles à indiquer, car on n'y arrive guère que par tâtonnement au cours des nombreux essais qu'une étude de ce genre nécessite), on obtient de petits amas d'aiguilles souples, jaune-brun, comparables à celles qu'on obtient avec l'essence de l'écorce du fruit, et solubles dans l'acide sulfurique pur, dans l'alcool dans l'acide acétique et dans l'acétone. Ces amas sont peu nombreux et sont toujours accompagnés de gros cristaux prismatiques incolores, insolubles dans l'acide acétique.

Lorsqu'on dilacère une de ces coupes soumises au réactif sulfurique, on met en liberté de petits cristaux incolores, jusqu'alors invisibles et qui se dissolvent dans l'acide sulfurique aussi rapidement que les paquets d'aiguilles brunes. Ils n'ont pas les caractères de solubilité de celles-ci. Ainsi, dans la feuille du mandarinier comme dans l'écorce de la mandarine, le sulfate de méthylanthranilate de méthyle n'est représenté que par des aiguilles jaunâtres.

7° RECHERCHE DU MÉTHYLANTHRANILATE DE MÉTHYLE
CHEZ LA RUE ET CHEZ LE BERGAMOTIER

RUE. — *Ruta Graveolens* L. Famille des *Rutacées*.

BERGAMOTIER. — *Citrus Aurantium* L ; subspec. *Bergamia*. Risso et Poiteau.

En réalité cette sous-espèce n'est qu'une variété.

Chez le *Ruta Graveolens* L. — Les poches sécrétrices situées dans la feuille sont séparées de l'extérieur par des cellules spéciales, faisant partie de l'épiderme, mais plus aplaties que les cellules épidermiques ordinaires.

Ces cellules, au nombre de quatre, forment un groupe bien visible de face (fig. 29, a) et laissent entre elles un

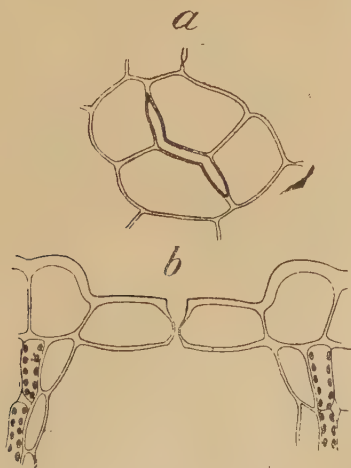


Fig. 29. — Appareil d'évacuation de la sécrétion d'une glande interne de *Ruta graveolens* L. — a, vue de la surface. — b, coupe transversale. (Figure extraite de HABERLANDT, *Physiologische Pflanzenanatomie*, Leipzig, 1904.)

méat, qui fait communiquer la glande avec l'extérieur.

Les cellules qui limitent la glande sont généralement petites et déprimées, mais lorsqu'elles deviennent turgescents, elles repoussent fortement la partie de leur membrane qui sert de paroi à la poche sécrétrice. Il en résulte une certaine pression à l'intérieur de celle-ci, et cette pression est suffisamment considérable pour provoquer l'écartement des cellules plates qui obstruent la crypte sécrétrice, et par suite l'expulsion de l'huile essentielle (fig. 29, *b*).



Fig. 30. — Rue officinale.

Le tissu palissadique de la feuille de Rue renferme autant de glandes sécrétrices que le parenchyme lacuneux voisin de la face inférieure ; mais c'est dans ce dernier tissu que se trouvent les faisceaux libéro-ligneux (fig. 31).

Nous avons étudié la localisation de l'huile essen-

tielle dans la feuille de la Rue à l'aide du Soudan III.

Nous avons ainsi relevé la présence de l'huile essentielle dans les *assises cellulaires sous-épidermiques* aussi bien *qu'au sein des cellules des glandes sécrétrices* (fig. 31).

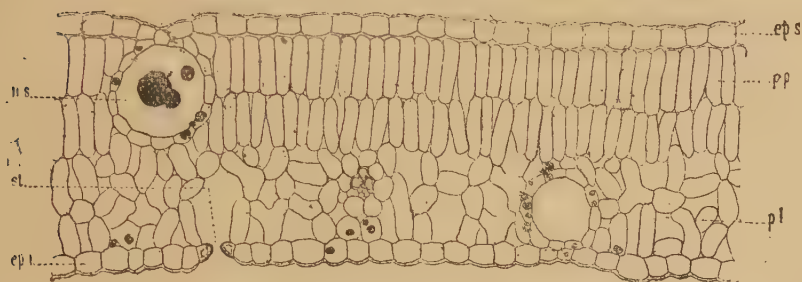


Fig. 31. — Coupe de la Feuille de Rue.

Localisation de l'huile essentielle.



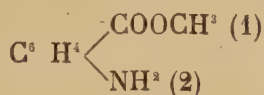
DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES SUR L'ANTHRANILATE
DE MÉTHYLE

CHAPITRE PREMIER

ÉTUDE MICROCHIMIQUE DE L'ANTHRANILATE DE MÉTHYLE

L'anthranilate de méthyle est un éther méthylique de l'acide ortho-amidobenzoïque.



Il a été signalé jusqu'ici par des méthodes non microchimiques dans les essences du Champaca, de la fleur d'oranger (1) — dite essence de Néroli — dans les essences de Portugal, de Citron, de fleur de Limettier, de *Robinia pseudo-Acacia*, de *Gardenia*, de Jasmin, de Tubéreuse.

Les plantes chez lesquelles il est connu appartiennent aux familles suivantes :

1° *Magnoliacées* (Champaca);

2° *Rutacées* (fleur de l'oranger à fruits amers, fruit de l'oranger à fruits doux, fruits du citronnier, fleurs du Limettier);

3° *Rubiacées* (*Gardenia*);

1. H WALBRAUM, *J. für prakt. chem.*, Leipzig, 1899; (2), t. LIX, p. 350.

4° *Oléacées* (Jasmin);

5° *Amarvllidacées* (Tubéreuse).

C'est un produit d'une grande puissance odorante, ses caractéristiques sont les suivantes :

Ébullition (9 mm.)	124°-125°
Fusion	24°- 25°
Densité à 15°	1,168

Ses solutions présentent une très jolie fluorescence bleue.

Par saponification avec la potasse alcoolique, on obtient l'acide anthranilique fondant à 144-145°.

Nous appliquerons notre méthode de recherche microchimique pour la recherche de l'anthranilate de méthyle :

1° Dans l'essence de Néroli;

2° Dans les végétaux suivants : Oranger (fleurs), Jasmin (pétales et feuilles), Tubéreuse (fleurs), Nigelle (graine), Lupin (axe hypocotylé de la graine germée).

Les chapitres les plus intéressants sont ceux relatifs aux graines du *Nigella damascena* et du *Lupin Rose*. Nous avons voulu montrer, par ces deux études et par l'expérimentation qu'elles ont entraînée, que l'essence ne doit pas être considérée comme un ensemble de produits d'excrétion, mais que les produits qui la composent accompagnent toute activité cellulaire. Leur apparition varie suivant les plantes, suivant la composition chimique du protoplasme végétal, en un mot ils sont spécifiques.

*Action du réactif (acide sulfurique + éther)
sur l'anthranilate de méthyle.*

Le produit pur qui nous a servi dans l'étude microchimique a été isolé par M. CHARABOT. On connaît la méthode d'extraction employée par ce chimiste ; elle a été décrite plus haut en traitant du méthylanthranilate de méthyle.

Le réactif sulfurique employé, même en faibles traces, provoque un précipité cristallin, blanc, abondant, et sa formation est si rapide que l'œil, au microscope, peut à peine suivre l'évolution des cristallisations depuis leur naissance jusqu'à leur taille d'équilibre.

Nous avons essayé — pour mieux suivre cette évolution qui est particulièrement intéressante pour notre méthode d'investigation, car elle constitue un caractère supplémentaire important du corps qu'on aura à rechercher chez les plantes, — de réaliser ainsi la réaction :

Une gouttelette d'anthranilate de méthyle pur est déposée sur une lame frottée au préalable avec de la paraffine, afin de la rendre moins mouillable ; ainsi, la gouttelette ne s'étale pas, elle demeure presque sphérique et mobile sur la couche de paraffine comme une petite perle. On prend alors un crin dont l'extrémité a trempé légèrement dans le réactif sulfurique, qu'on introduit au centre de la sphérule d'anthranilate ; malgré la délicatesse du procédé et malgré la faible proportion du réactif, la réaction est toujours brusque et le précipité abondant. Le liquide qui baigne

ce précipité n'a plus l'odeur de l'antranilate : celui-ci est passé tout entier à l'état de sulfate.

Donc, le premier résultat caractérisant la présence d'antranilate est la formation avec le réactif sulfurique d'un rapide et très abondant précipité de sulfate blanc.

Dans les plantes où ce corps existe, nous devons donc obtenir plus vite la cristallisation du sulfate d'antranilate de méthyle qu'on obtenait celle du sulfate de méthylantranilate de méthyle et d'ailleurs la proportion du sulfate précipité doit être aussi plus grande.

Ensuite, les cristallisations de sulfate d'antranilate se feront reconnaître par leur coloration blanche, coloration due en réalité à la multiplicité des individualités cristallines, associées très étroitement.

Formes cristallines. — Comme le montre la figure 32, il n'apparaît avec le réactif sulfurique qu'une seule forme cristalline. Les figurations diverses qui sont re-



Fig. 32. — Action du réactif sulfurique sur l'antranilate de méthyle.
Apparition des cristaux de sulfate d'antranilate de méthyle.

présentées dans la figure 33 ne sont que des diversités de l'association.

La forme la plus élémentaire, c'est-à-dire l'unité cris-

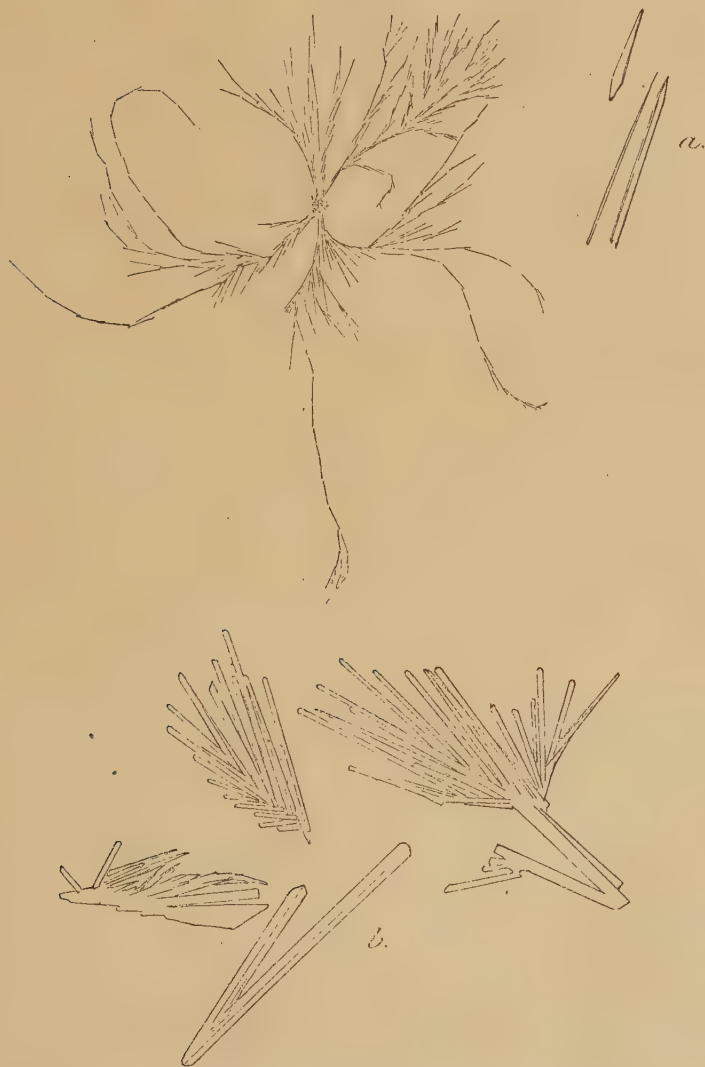


Fig. 33. — Un second aspect de la réaction ;
b, groupes « en éventail », typiques ; *a*, éléments isolés.

talline, pourrait être la forme désignée par *a* dans la figure 33. Mais nous ne l'admettons pas actuellement, car une extrémité de ce cristal était, ou paraissait être, engagée dans une association de cristaux, tels qu'en montre la figure 33.

Donc, comme second caractère important du sulfate précipité, noter l'absence totale de formes cristallines solitaires; il n'y a que des associations de cristaux. On ne peut donc ramener à aucun type géométrique l'unité cristalline du sulfate d'anthranilate de méthyle, puisqu'elle nous reste inconnue.

En l'absence de ce caractère fondamental, il importe d'essayer de préciser les formes des diverses associations cristallines.

On voit que la plus abondante est la forme en éventail et que l'accroissement de ces associations se présente toujours sous cette même forme. En effet l'accroissement est unilatéral, un cristal peu individualisé, mais cependant précis, que nous appellerons *cristal-maitre*, a été le point de départ de l'agglomération cristalline. Dans la figure 33 ce cristal *b* se trouve toujours occuper la droite de chaque groupe cristallin. Les cristaux qui se surajoutent, qui viennent nourrir le groupe, se présentent sur la gauche des associations que nous avons figurées. De plus, cet accroissement se fait dans un plan unique, si bien que chaque groupe ne s'accroît pas en volume, mais seulement en surface (1).

1. Bien entendu le groupe cristallin a une épaisseur, mais nous faisons abstraction de cette dimension, d'ailleurs très petite relativement à la longueur des cristaux.

Les autres formes figurées dans notre esquisse représentent des groupes en voie de formation. Il arrive que les groupes s'associent encore, si bien qu'on obtient un complexe qui paraît illisible.

Pour le dissocier, on fait tomber une faible proportion de précipité de sulfate d'anthranilate de méthyle, lequel forme un amas très cohésif (tant les groupes cristallins sont intriqués étroitement les uns dans les autres), dans un tube rempli d'éther. On sait que la dissolution des sulfates d'anthranilate et de méthylanthranilate de méthyle est si lente, si faible dans ce liquide, qu'on peut considérer que ces corps y demeurent insolubles. On bat violemment le précipité en agitant le tube bouché avec le pouce. On prélève alors une petite portion du liquide où voyagent les groupes cristallins dissociés et on porte cette portion sur une lame pour l'étude microphysique.

Passons maintenant à l'étude des caractères de solubilité du sulfate, vis-à-vis des liquides choisis et que nous rappelons :

Eau, alcool absolu, acétone, acide acétique, xylol, éther, acide sulfurique, réactif sulfurique (c'est-à-dire $\text{SO}^4\text{H}^2 + \text{éther}$), glycérine pure, solutions saturées de sulfate de calcium et de sulfate de potassium.

CARACTÈRES DE SOLUBILITÉ DES CRISTAUX OBTENUS

Le sulfate d'anthranilate de méthyle se dissout avec une extrême lenteur dans l'éther et ce caractère est déjà bien connu. Dans une chambre humide saturée d'éther

et maintenue bien fermée, on peut laisser séjourner des préparations de sulfate d'anthranilate montées dans l'éther sans observer jamais de dissolution. Mais, en maintenant des cristaux de sulfate d'anthranilate de méthyle dans un tube contenant de l'éther on observe leur disparition au bout de plusieurs jours.

La dissolution est au contraire très rapide dans l'eau distillée ; on peut même la qualifier d'instantanée. Aussi pour la recherche de la solubilité, des mêmes cristaux, dans la glycérine et dans l'alcool absolu, également avides d'eau, nous avons été obligé de faire les essais avec les plus grandes précautions. Nous ne nous servions que d'alcool absolu dans lequel séjournait du sulfate de cuivre chauffé à 200° , anhydre, composé qu'on sait très avide d'eau et qui s'empare immédiatement de l'eau que peut à la longue absorber l'alcool absolu. Nous ne nous servions également que de glycérine absolument privée d'eau, et les préparations déjà réalisées furent placées dans un milieu très sec à l'abri de l'humidité, dans une petite chambre de dessiccation, une cupule d'acide sulfurique assurant la dessiccation complète.

Dans ces conditions, nous avons vu se dissoudre les cristaux de sulfate d'anthranilate de méthyle aussi bien dans la glycérine que dans l'alcool absolu ; la dissolution était plus rapide dans la première de ces substances, mais elle n'était pas trop lente dans l'alcool absolu.

Cette dissolution lente était recherchée dans le but de découvrir au milieu des amas cristallins des formes isolées qui pouvaient nous renseigner sur la forme élémentaire géométrique du sulfate d'anthranilate de méthyle.

Or, c'était dans l'alcool absolu que cette disparition se faisait avec le plus de lenteur, mais nous n'avons pu saisir de dissociation au cours de la dissolution, qui pouvait seule, libérer des individualités cristallines.

Dans le xylol, la dissolution est assez rapide, mais elle est plus grande dans les solutions saturées de sulfate de potassium et de sulfate de calcium.

Le sulfate d'anthranilate de méthyle est soluble dans l'acide sulfurique, de même que dans le réactif sulfurique où il se forme; il est également soluble dans l'acide acétique. Enfin, vis-à-vis de l'acétone, sa solubilité est également positive, mais elle est particulièrement lente; aussi apparaît-elle d'abord négative.

Résumons dans le tableau suivant les caractères de solubilité que nous venons de détailler :

Eau	+
Alcool absolu	+
Xylol	+
Acide acétique	+
Acétone	+ — (1)
Éther	+ —
Acide sulfurique	+
Solution saturée $\text{SO}_4 \text{ K}^2$	+
Solution saturée $\text{SO}_4 \text{ Ca}$	+
Réactif sulfurique.	+
Glycérine pure.	+

Il est intéressant de remarquer que le sulfate d'anthranilate de méthyle a les *caractères de solubilité* tous

1. Le signe + — signifie pour nous : Solubilité si faible, si lente qu'elle semble tout d'abord négative.

positifs, absolument comme le sulfate de méthylanthranilate de méthyle.

Par conséquent, les caractères de différenciation de ces solubilités, parallèlement positives, ne peuvent s'établir que sur la *rapidité de dissolution* dans les liquides proposés.

Il y aura donc lieu, chaque fois qu'on supposera qu'on peut se trouver en présence de ces deux corps, d'observer minutieusement la rapidité de la dissolution de leur sulfate respectif dans les liquides proposés.

L'étude des formes propres à chacun de ces sulfates achèvera l'identification.

CHAPITRE II

FORMATION SIMULTANÉE DE SULFATE D'ANTHRANILATE DE MÉTHYLE ET DE SULFATE DE POTASSIUM

Nous avons procédé à la même série d'études micro-chimiques simultanées que pour le méthylantranilate de méthyle.

On peut, en réalisant ces réactions simultanées, où le milieu physico-chimique se trouve modifié, tomber brusquement dans les conditions naturelles de la réaction telles qu'elles se présentent sur les essences extraites des végétaux odorants ou sur les végétaux eux-mêmes.

En tous cas, on peut dans ces nouvelles conditions physico-chimiques, provoquer des formes cristallines inattendues et qui étendent nos moyens d'investigation chez les végétaux.

Pour cela, sur des mélanges en proportions variées de carbonate neutre de potassium et d'antranilate de méthyle, nous faisons agir le réactif sulfurique également en quantité très variable.

Dans toutes les séries réalisées, nous n'avons jamais obtenu d'autres formes de cristaux que celles qui ont été décrites, d'une part pour le sulfate de potassium, d'autre part pour le sulfate d'antranilate de méthyle.

Dé même, les solubilités essayées ont montré avec précision tous les caractères propres à chacun de ces deux corps, et qui permettent de les reconnaître aisément dans n'importe quel complexe cristallin.

Un caractère important et que nous n'avons jamais négligé dans cette étude est celui de la recristallisation immédiate. Dans le complexe de ces deux sulfates, un seul sulfate se recristallise immédiatement et par ses formes autant que par ses caractères de solubilité nous avons reconnu que c'était le sulfate de potassium. La figure 34 représente la forme typique de recristallisation de sulfate de potassium.



Fig. 34. — Réaction en présence du sulfate de potassium ; cristallisation typique du sulfate de potassium après la disparition du sulfate d'anthranilate, dissous dans l'alcool absolu.

CHAPITRE III

FORMATION SIMULTANÉE DE SULFATE D'ANTHRANILATE DE MÉTHYLE ET DE SULFATE DE CALCIUM

Il est inutile de détailler cette étude, elle est comme le sera celle avec l'asparagine, absolument parallèle à la précédente.

Les formes propres du sulfate de calcium sont toutes celles que nous avons longuement décrites.

La seule forme que nous connaissons du sulfate d'anthranilate de méthyle et que nous retrouvons ici suffirait à distinguer nettement ces deux sulfates l'un de l'autre. Néanmoins nous avons complété cette recherche par l'étude des caractères de solubilité du complexe.

Les cristaux de sulfate d'anthranilate de méthyle sont solubles dans l'acide sulfurique, dans l'acide acétique, dans la glycérine, dans l'alcool absolu, tandis que le *sulfate de calcium demeure insoluble dans ces quatre liquides.*

CHAPITRE IV

FORMATION SIMULTANÉE DU SULFATE D'ANTHRANILATE DE MÉTHYLE ET DU SULFATE D'ASPARAGINE

Le mélange d'asparagine et d'anthranilate de méthyle soumis à l'action du réactif sulfurique a donné des résultats intéressants :

Le sulfate d'anthranilate de méthyle est apparu sous les deux formes représentées dans les figures 32 et 33.

On reconnaît les cristaux de sulfate d'asparagine à leur forme bien spéciale et par leurs caractères de solubilité.

Parfois les groupes d'aiguilles du sulfate d'anthranilate se « greffaient » sur un amas de gros cristaux pyramidaux dont la résistance à la dissolution est d'ailleurs curieuse.

Aussi croyions-nous d'abord avoir affaire à une forme du sulfate d'asparagine, bien qu'il n'y ait pas d'exemple de cristaux d'espèces différentes qui s'associent pour former des complexes cristallins ; quoi qu'il en soit, la dissolution des grosses formes cristallines du sulfate d'anthranilate de méthyle dans leurs solvants se fait avec une lenteur extrême.

CHAPITRE V

ESSAI DE FORMATION SIMULTANÉE

DES

QUATRE SULFATES : D'ANTHRANILATE DE MÉTHYLE, D'ASPARAGINE, DE CALCIUM ET DE POTASSIUM

Un essai comparable à celui que nous avons fait pour le méthylantranilate de méthyle en cherchant à se rapprocher des conditions naturelles semblait utile. Comme véhicule de ces quatre corps, nous nous sommes servi d'eau distillée et nous avons fait agir le réactif sulfurique sur ce mélange.

Nous avons naturellement obtenu les formes connues de ces quatre sulfates. Comme je l'ai dit déjà à propos du méthylantranilate, en faisant cet essai, on se trouve, semble-t-il, en présence d'un nouvel équilibre qui pourrait permettre l'apparition de nouvelles formes dans l'un ou l'autre des sulfates étudiés, et en particulier on pouvait peut-être trouver des formes qui se rapprochent davantage de celles qu'il est possible de rencontrer chez les plantes, en faisant la recherche de l'antranilate de méthyle.

Il n'en est rien, car cet essai ne nous a pas permis

d'observer l'apparition de nouvelles formes, mais il a eu pour résultat de montrer que l'identification par les caractères de solubilité était désormais praticable ; dès lors, le procédé que nous préconisons paraît indiscutable.

CHAPITRE VI

RECHERCHE DE L'ANTHRANILATE DE MÉTHYLE CHEZ LES PLANTES

A. — ESSENCE DE FLEUR D'ORANGER ET ESSENCE DE NÉROLI

L'essence de fleur d'oranger renferme outre l'éther d'acide amidé, but de cette étude, l'anthranilate de méthyle, des terpènes du linalol et du géraniol, libres ou combinés.

MM. CHARABOT et LALOUE (1) ont montré que pendant le développement de la fleur, l'huile essentielle s'enrichit en alcool total, en éthers terpéniques, en anthranilate de méthyle ; en d'autres termes, l'éthérification continue pendant tout ce temps.

La méthode d'extraction la plus favorable est la méthode par distillation (2).

A l'inverse de ce qui a lieu chez les fleurs du Jasmin et de la Tubéreuse, la fleur d'Oranger ne continue pas de produire du parfum, lorsqu'on prolonge sa vie (3).

1. CHARABOT et LALOUE. *Bull. Soc. Chim.*, Paris, 1904 ; (3), t. XXXI, p. 937.

2. HESSE et ZEITSCHL. *J. für prak. chem.*, Leipzig, 1901 ; (2), t. LXIV, p. 245.

3. CHARABOT et GATIN. *Loc. cit.*

1° *Etude microchimique de l'essence de néroli ou de l'essence de fleur d'oranger par action du réactif :
Acide sulfurique + éther, sur l'essence pure.*

Réaction entre lame et lamelle. — Les résultats ne sont pas immédiats, car la formation des cristaux est assez lente. Au bout de quinze minutes, parmi les gouttelettes brunes qui sont le premier résultat de la réaction, on voit se former des arborescences du type de celle représentée dans la figure 35 et les cristaux qui les composent sont complètement incolores. Aussitôt après ces arborescences apparaissent de nombreux cristaux isolés, de petites dimensions (fig. 35) et de formes variées, dont la plupart se régularisent comme en c.

On pouvait se demander si la précipitation des cristaux ne pouvait pas être plus rapide, lorsqu'on emploie des proportions favorables de réactif et d'essence. J'ai fait une série d'essais, comparables à ceux qui ont été réalisés pour *l'Essence de Mandarine*. Mais il n'y a pas de proportions qui hâtent la formation du précipité ; celui-ci, quelles que soient les quantités de réactif employées, demande au moins quinze minutes à se former. La seconde étape de la réaction est marquée par l'apparition de cristaux isolés longs (prismatiques) et minces qui représentent l'élément constitutif des arborescences. On remarquera sur la figure 36, en k, la genèse de ces cristaux ; à l'origine ils figurent deux M accolés par leur base.

Tous ces cristaux sont ceux dont l'apparition est hâ-

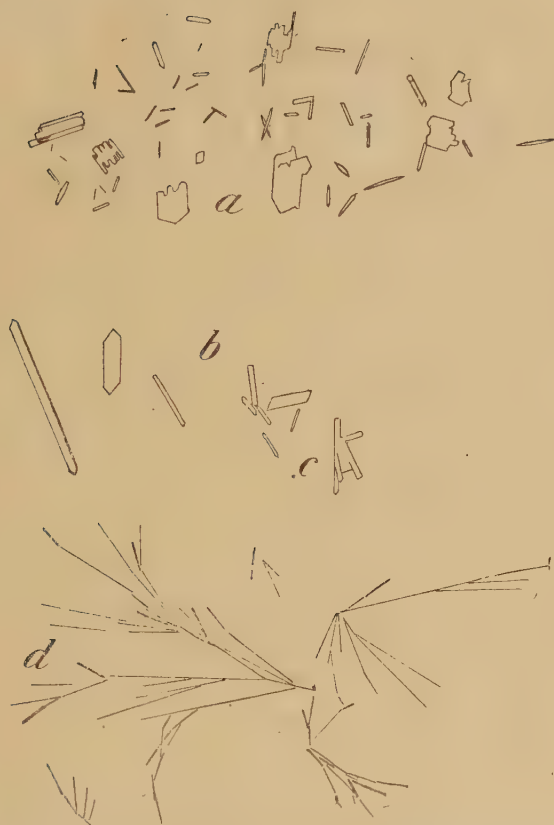


Fig. 35. — Action du réactif sulfurique sur l'essence de Néroli.

tive. Les cristaux formés lentement n'en diffèrent guère. Ils sont seulement *plus longs, plus épais et non isolés*.

Le seul élément nouveau serait le prisme court et épais signalé en *a* sur la figure 35. Comme les précédents, ils sont aussi incolores.

Les cristaux représentés en *m* dans la figure 36 sont apparus dans les mêmes préparations examinées dix jours après. Dans la figure précédente, les gouttelettes

de la réaction étaient déjà moins nombreuses, en raison de la quantité progressive des cristaux qu'elles ont nourri ; ici, leur disparition est presque totale.

Un caractère important de cette réaction microscopique est la disparition progressive des arborescences.

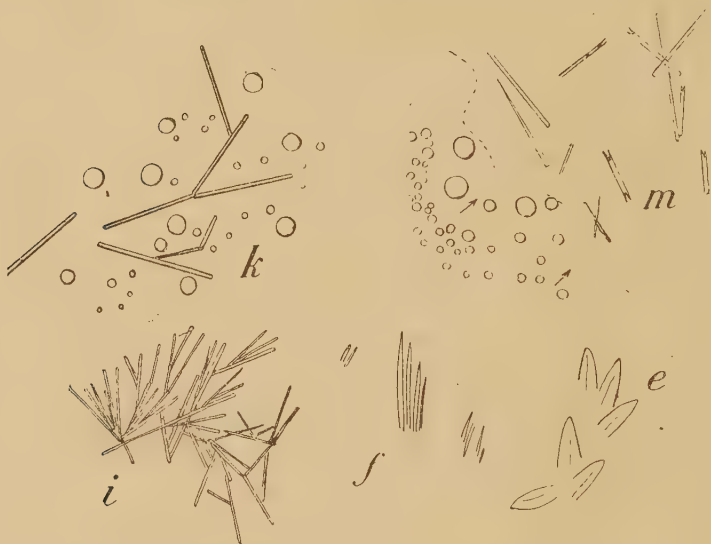


Fig. 36. — Évolution de la réaction sulfurique sur l'essence de Nérol.

k, aspect de la réaction sur le pourtour de la préparation.

m, aspect de la réaction, lorsque les deux liquides, essence et réactif se mettent en contact.

i, cristallisations formées en premier lieu.

f, *e*, formes cristallines formées au bout de 10 jours.

Dix jours après le début de la réaction, elles ont presque toutes disparu. Un autre caractère à signaler, c'est l'absence des aiguilles minces, en paquets, qui caractérisaient la réaction sur l'essence de mandarine.

Autres caractères immédiats de la réaction. — Dans les groupes *k*, et *m*, de la figure 36, il apparaît de nom-

breuses gouttes huileuses de toutes dimensions qui sont les premiers résultats de la réaction. En *m*, se marque déjà la tendance des gouttes à se grouper pour former une nappe ou des nappes au sein desquelles prennent naissance les prismes isolés ; la figure est remarquable à ce point de vue. Ces nappes sont d'un rose jaunâtre très pâle et les cristaux isolés y apparaissent incolores. Mais les arborescences sont d'un jaune très accentué à cause du relief des nombreux et minuscules globules qui nourrissent tous ses éléments. En dehors de ces caractères, rappelons que la formation d'arborescences caractérise le début de la réaction, leur disparition progressive étant accompagnée de l'apparition de cristaux isolés, devenant de plus en plus nombreux et de plus grandes dimensions.

Caractères de solubilité. — Tous les cristaux représentés dans la figure 35 et qui constituent le résultat stable de la réaction (cristaux nés durant la dislocation des arborescences) ne se dissolvent pas dans l'alcool, ni dans l'acétone, ni dans l'acide acétique.

La plupart des cristaux se dissolvent dans le *xylol* ; résistent seuls ceux qui sont représentés figure 36. Cette dissolution est intéressante à suivre. Il y a, au fur et à mesure de la disparition des cristaux solubles dans le *xylol*, formation de plages huileuses jaunes à contours irréguliers, au sein desquelles on relève de nombreuses gouttelettes incolores très réfringentes. Sur le pourtour de la lamelle, il y a formation rapide de cristaux grâce à l'évaporation rapide du *xylol*. Après lavage minutieux de la préparation à l'alcool, celle-ci reprend

l'aspect qu'elle avait avant l'action du xylol en même temps que disparaissent les masses huileuses jaunâtres ; toutes les formes cristallines qui caractérisaient la réaction réapparaissent aussi nombreuses et de mêmes dimensions.

Dans la figure 36 sont représentés vus à un faible grossissement des cristaux qui résistent à l'action de l'acide acétique, mais qui sont solubles dans l'eau. En comparant avec ceux qui sont représentés dans la figure 35, on voit que ce sont à peu près les mêmes. Les cristaux figurés en *e* figure 36, méritent une mention particulière ; cette forme en fuseau que nous avons déjà connue chez l'essence de mandarine est extrêmement rare. L'autre forme *f*, cristaux en fer de lance associés, a été obtenue dans un essai où le réactif sulfurique avait une proportion très élevée d'éther, plus élevée que la proportion adoptée. L'apparition des cristaux avait été très lente et je n'ai observé qu'un seul groupe comme celui-ci. Ces cristaux qui sont dessinés à un faible grossissement sont géants par rapport aux cristaux habituels. Ils sont incolores. Il y a lieu de rechercher dans l'identification qui va suivre, si ces formes ne sont pas déjà connues et où elles ont été observées.

CHAPITRE VII

A. — IDENTIFICATION DES CRISTAUX DE SULFATE D'ANTHRANILATE

- 1° *Comparaison avec les cristaux de SO^4Ca .*
- 2° *Comparaison avec les cristaux de SO^4K^2 .*
- 3° *Comparaison avec les cristaux de sulfate obtenu sur l'asparagine.*
- 4° *Comparaison du sulfate d'anthranilate obtenu sur le produit pur.*
- 5° *Formes déjà vues dans les réactions précédentes.*

1° Certaines associations de cristaux prismatiques de SO^4Ca rappellent les complexes du sulfate d'anthranilate de méthyle (voir la figure relative au sulfate de calcium). Mais les caractères de solubilité suffisent à les différencier : le sulfate d'anthranilate de méthyle se montrera soluble dans tous les solvants que nous avons proposés, ne présentant une certaine résistance à la dissolution que dans l'éther.

2° Les arborescences cristallines (fig. 35) qui caractérisent l'essence de Néroli sont bien constituées par du sulfate d'anthranilate de méthyle.

Un des faits les plus remarquables de la réaction sur l'essence de la fleur d'oranger est l'extrême lenteur

avec laquelle se forme le précipité de sulfate d'anthranilate de méthyle, alors que la réaction sur l'anthranilate libre est tumultueuse et donne instantanément un précipité des plus abondants. Ces arborescences que nous trouvons dans l'essence de Néroli après l'action du réactif sulfurique, caractérisent essentiellement chez l'anthranilate pur, la recristallisation du sulfate dissous. Les cristaux, dans ce cas comme dans l'autre, sont absolument incolores. Les cristaux épais associés en éventail qui constituent le précipité rapide obtenu sur l'anthranilate pur, se retrouvent dans la réaction sur l'essence de Néroli. Ils sont représentés en *e*, figure 36. Les cristaux isolés obtenus sur l'essence, figure 35, peuvent rappeler ceux du sulfate de potassium.

Les caractères de solubilité permettent d'ailleurs cette identification.

3° Les cristaux en formation qu'on voit dans la figure 36 appartiennent bien au sulfate d'anthranilate de méthyle, mais les cristaux représentés en *f* ont été observés déjà durant la réaction sur le méthylanthranilate de méthyle. Ils ne paraissent pas appartenir aux corps que nous avons envisagés dans cette étude.

Nous devons rapporter à l'asparagine ou plutôt au sulfate d'asparagine, certaines des formes cristallines de la figure 35.

4° Appartiennent sans conteste au sulfate d'anthranilate de méthyle les formes cristallines *d*, *e*, des figures 35 et 36, les cristaux *a* de la figure 36 appartenant au sulfate de potassium.

5° La forme en fuseau de la figure 36 a tous les caractères de solubilité du sulfate d'anthranilate de méthyle. Nous devons donc, jusqu'à nouvel ordre, rapporter cette forme rare au sulfate du corps que nous cherchons, à moins qu'elle représente le méthylanthranilate de méthyle qu'il serait possible de retrouver ici.

B. — RECHERCHE MICROCHIMIQUE DE L'ANTHRANILATE
DE MÉTHYLE

1° *Dans la fleur d'oranger.*

D'après MM. CHARABOT et GATIN (1) l'essence renferme tous les composés terpéniques qu'on trouve dans la feuille et en plus un composé non terpénique qui est l'anthranilate de méthyle.

MM. CHARABOT et LALOUÉ (2) ont étudié le développement des principes odorants dans la fleur d'oranger. Ils ont fait l'examen comparatif de boutons floraux et de fleurs épanouies qui provenaient des mêmes arbres. Au début de la floraison et dans le même lot de fleurs, les boutons étaient séparés des fleurs épanouies ; à la fin de la floraison la même opération était recommencée pour le contrôle des résultats. L'extraction de l'huile essentielle, en tenant compte de la portion contenue dans les eaux de la distillation, montra que la proportion centésimale, et le poids absolu d'essence

1. CHARABOT et GATIN, 1908, *loc. cit.*

2. CHARABOT et LALOUÉ, *C.R. Ac. Sc.*, Paris, 1904, t. CXXXVIII, p. 1513.

étaient plus élevés à la fin de la récolte qu'au début.

Pour les fleurs, on séparait les pétales des autres parties de la fleur : ce sont les pétales qui renferment la majeure partie de l'huile essentielle de la fleur, et qui en contiennent la plus grande proportion centésimale.

Mais les recherches de MM. A. HESSE et O. ZEITSCHSEL (1) ont montré que, à l'inverse de ce qui se passe chez les fleurs du Jasmin et de la Tubéreuse, la fleur d'oranger ne continue pas de produire du parfum durant l'enfleurage, en un mot lorsqu'on prolonge sa vie.

Localisation dans la fleur. — Lorsqu'on examine la coupe d'un pétale, figure 38, on constate que les cellules de l'épiderme du pétale qui regarde l'axe de la fleur, sont relevées en papilles et que tout le parenchyme, homogène, renferme des poches sécrétrices. La localisation de l'essence a été étudiée au moyen du réactif au Soudan III. Cette étude a montré qu'il existe bien de l'essence dans le canal sécréteur qu'on voit sur la figure 38, mais il en existe aussi bien, et d'ailleurs en plus grande quantité, dans les cellules du parenchyme périphérique.

M. HÉRAIL (2) a déjà mentionné cette large localisation : « Les réactions microchimiques et en particulier les essais de localisation au Soudan III montrent que l'huile essentielle est localisée non seulement dans ces

1. A. HESSE et ZEITSCHSEL, 1901, *Journ. f. prakt. chem.*, 1901 ; (2), t. LXIV, p. 245-260.

2. HÉRAIL, *Traité de matière médicale*. Deuxième édition, J.-B. Baillière et fils, Paris, 1912, p. 263.

poches réservoirs spécialisés, mais aussi dans les cellules des deux épidermes. » Ces gouttelettes paraissent être un résultat de l'activité cellulaire, aussi *augmen-*

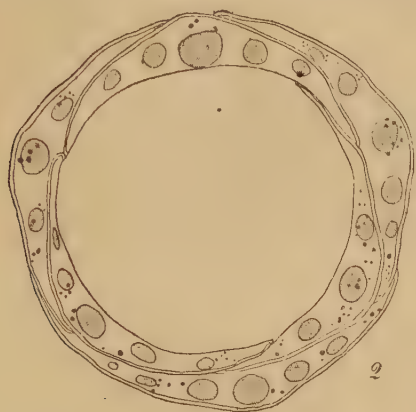


Fig. 37. — 1. Rameau fleuri de l'oranger. — 2. Localisation générale de l'essence dans la fleur d'oranger. Coupe transversale. Les gouttelettes d'essence sont figurées en noir.

tent-elles à mesure que vieillit la fleur. Dans une vieille fleur, on trouve à l'aide du Soudan III des gouttelettes dans presque toutes les cellules et nous avons constaté



Fig. 38. — Localisation dans le pétale.

- 1) Coupe transversale traitée par le Soudan III.
- 2) Coupe tangentielle, traitée par le Soudan III. L'épiderme de la face externe du pétale est respecté. L'essence est localisée dans toutes les régions avoisinant les faisceaux libéro ligneux.

qu'elles *sont rares ou nulles* dans les pétales d'un bouton (fig. 39).

Fort de cette remarque, nous nous sommes livré à une petite étude expérimentale qui ne manque pas d'intérêt.

Un lot de pétales d'oranger entiers fut soumis à l'action du Soudan III ; lorsque ceux-ci étaient jeunes, ou mieux, provenaient de boutons en train d'éclore, on ne trouvait que fort peu de gouttelettes, dans le tissu du pétale, qui fussent colorées par le Soudan ; les pétales provenant de fleurs vieilles en présentaient un nombre extraordinairement élevé, mais c'est surtout les fleurs meurtries qui se montraient le plus riche en huile essentielle. Aussi un lot de pétales découpés à dessein avec des ciseaux fins, ou mâchés avec une pince à dents

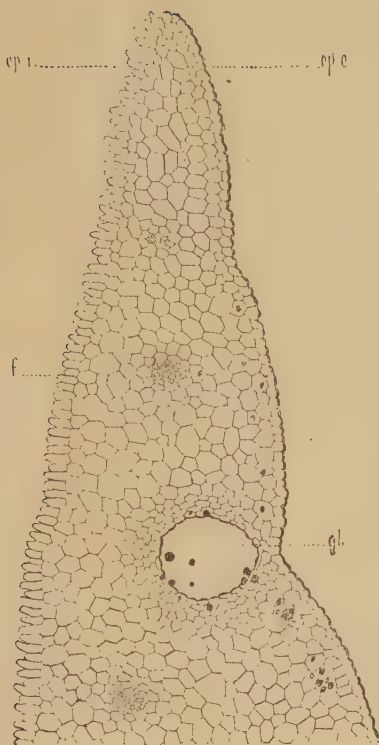


Fig. 39. — Coupe transversale d'un pétale passant par une poche sécrétrice. Localisation.

nous donnèrent-ils les plus beaux résultats. La figure 40 en témoigne sans autre explication.

Action du réactif sulfurique. — Nous avons fait agir le réactif sulfurique : 1° sur des coupes pratiquées transversalement et longitudinalement dans le pétale de la fleur ; 2° sur des pétales entiers placés au fond d'un tube. Dans ce cas, on centrifugeait de nouveau et on puisait avec une fine pipette une petite portion du fond. Les cristallisations étaient rares, mais elles étaient ca-



Fig. 40. — Pétale de fleur d'Oranger soumis en entier à l'action du Soudan III. En *x*, le pétale a été incisé avec des ciseaux. En *y*, les tissus ont été écrasés et rompus par une pince. La base du pétale sectionnée offre aussi une quantité élevée d'huile essentielle.

ractéristiques. Parmi elles on retrouvait notamment celles du sulfate d'antranilate et du sulfate de potassium (fig. 41).

Elles étaient totalement absentes dans le parenchyme des pétales qu'on avait mis dans l'éther. Pour les rechercher, après avoir soigneusement lavé ceux-ci dans l'éther, on dilacérait leurs tissus ou bien on pratiquait des coupes comme sur des pétales frais ; cette recherche fut négative..

Les coupes fraîches ont donné de meilleurs résultats (fig. 42), mais on n'obtient pas de cristallisations spontanées comme en partant de l'essence de Néroli. La



Fig. 41. — Action du réactif sulfurique sur la fleur entière.
Formes des cristaux accumulés dans le fond du tube.

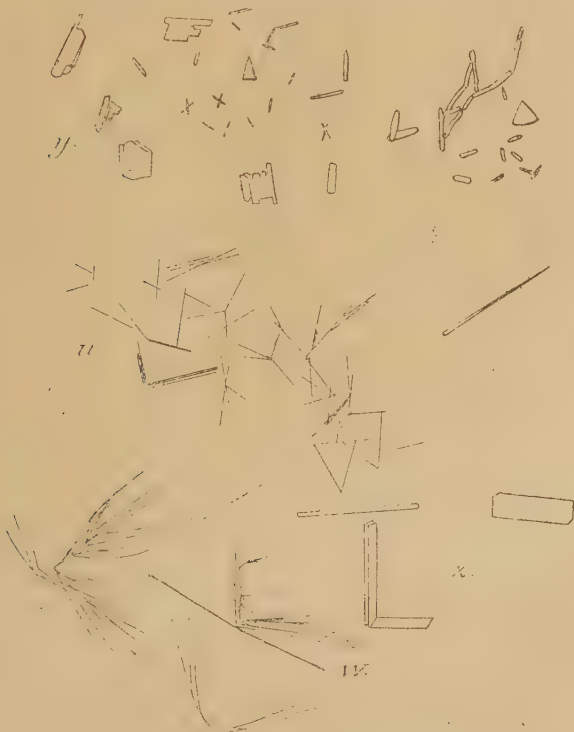


Fig. 42. — Action du réactif sulfurique sur des coupes
de la fleur de l'oranger.

w, cristaux de formation immédiate.

u, cristaux formés sur le pourtour de la préparation.

y, cristaux de seconde formation.

z, seuls cristaux obtenus sur le bouton de la fleur d'oranger.

formation de ces cristaux était toujours lente. Cependant on retrouve toutes les formes observées dans la réaction sur l'essence pure et les mêmes caractères de solubilité.

2° *Dans la feuille d'oranger* (fig. 43).

L'épiderme ne porte pas de poils et présente des cellules renfermant de gros cristaux isolés d'oxalate de

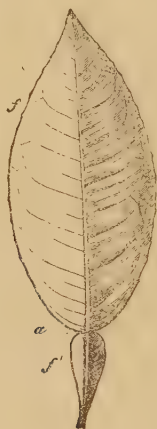


Fig. 43. — Feuille d'Oranger.

calcium. Le parenchyme est différencié ; à la partie supérieure on remarque un tissu en palissade sur deux assises cellulaires renfermant des glandes sécrétrices (fig. 44).

L'odeur aromatique est faible, la saveur est légèrement amère et un peu « aromatique ».

Les feuilles d'oranger renferment de l'huile essentielle, un principe amer, et, parmi les autres substances

organiques, des bases dont la plus abondante est la stachydrine.

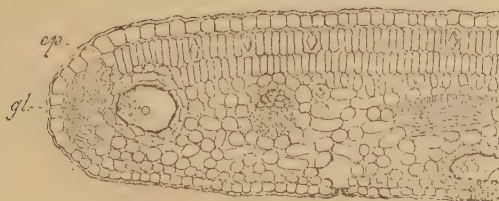


Fig. 44. — Coupe transversale de la feuille d'Oranger.

L'huile essentielle de la feuille d'oranger est connue sous le nom d'*essence de petit grain*, parce qu'on la préparait jadis avec de très jeunes fruits d'oranger ; elle renferme du linalol, de l'acétate de linalyle, du limonène et un sesquiterpène. On a aussi signalé du géraniol, de l'acétate de géranyle et d'autres composés oxygénés.

Notre procédé de recherche n'a *décelé aucun cristal* rappelant le sulfate d'anthranilate de méthyle.

CHAPITRE VIII

LE PARFUM CHEZ LA FLEUR DE JASMIN

D'une première étude faite sur le jasmin par M. A. HESSE (1) on déduisait que l'extrait ne renfermait ni anthranilate de méthyle, ni indol. La méthode d'extraction employée était celle des dissolvants volatils.

L'année suivante (1901) M. ERDMANN (2) signala la présence de l'anthranilate dans l'essence extraite du produit de l'épuisement des fleurs de jasmin au moyen de l'éther de pétrole.

M. HESSE (3) réussit par la suite à caractériser ce corps dans l'essence provenant de l'épuisement des pommades de jasmin. Ces dernières s'obtiennent par l'enfleurage à froid, c'est-à-dire en abandonnant pendant vingt-quatre heures des fleurs de jasmin au contact de la graisse froide. On peut admettre que les fonctions vitales des fleurs continuent de s'exercer pendant cette opération (4) tandis que par le traitement à

1. A. HESSE. *Ber. d. d. chem. Gesel.*, Berlin, 1900, t. XXXIII, p. 1585.
— *Id.*, 1901, t. XXXIV, p. 291.

2. E. ERDMANN. *Ber. d. d. chem. Gesel.*, Berlin, 1901, t. XXXIV, p. 228.

3. A. HESSE et ZEITSCHEL. *J. für prakt. chem.*, Leipzig, 1901, t. LXIV, p. 245.

4. CHARABOT et GATIN. *Loc. cit.*, 1908.

l'éther de pétrole (méthode des dissolvants volatils) la vie des fleurs serait arrêtée.

M. HESSE pense que l'anthranilate de méthyle et l'indol naissent durant l'enfleurage, c'est-à-dire après la cueillette de la fleur. Cet auteur a soumis des lots de fleurs aux trois traitements suivants :

1° Extraction de l'essence au moyen des dissolvants volatils.

2° Distillation avec vapeur d'eau et épuisement des eaux distillées.

3° Enfleurage : distillation des fleurs retirées des châssis d'enfleurage et épuisement des eaux de distillation.

L'essence résultant de la distillation est analogue à celle obtenue au moyen de l'éther de pétrole, pourtant elle renfermait 1,5 % d'anthranilate, mais, pas d'indol. L'essence extraite de la pommade contenait 0,3 % d'anthranilate de méthyle et environ 2,5 % d'indol (1).

« Un fait est particulièrement frappant : Après avoir fourni par l'enfleurage une quantité importante de matière odorante, les fleurs de Jasmin en emportent autant qu'elles en renfermaient avant l'opération » (2).

M. HESSE estime que l'anthranilate de méthyle et surtout l'indol n'existent pas à l'état libre dans les fleurs de Jasmin. Ces corps s'y trouvent à l'état de combinaisons complexes, se dédoublant aisément soit au cours de la distillation soit au cours de l'enfleurage.

1. A. HESSE. *Ber. d. d. chem. Gesell.*, 1901, t. XXXIV, pp. 2916-2932.

2. CHARABOT et GATIN, 1908. *Loc. cit.*

C. — RECHERCHE MICROCHIMIQUE DE L'ANTHRANILATE
DE MÉTHYLE DANS LA FLEUR DU JASMIN

(*Jasminum grandiflorum* L. Oléacée).

Localisation de l'essence. — On sait que les deux étamines de la fleur du Jasmin sont respectivement concrescentes avec deux des pétales soudés de la fleur jusqu'au niveau où le tube floral se divise (fig. 45).

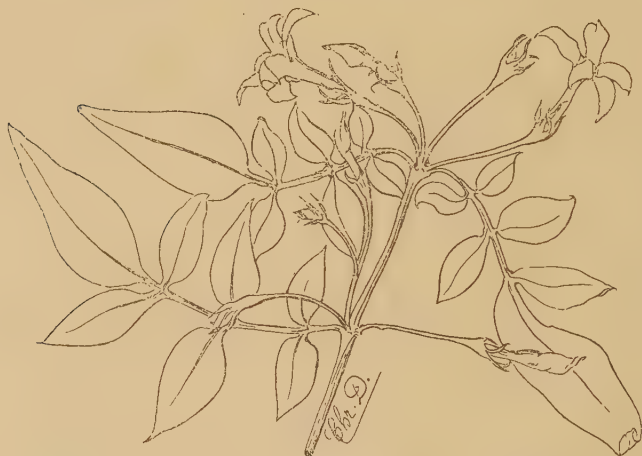


Fig. 45. — Extrémité fleurie d'un rameau de Jasmin.

La partie libre du pétale du Jasmin coupée transversalement présente 9 à 12 faisceaux libéro-ligneux, que le Soudan III colore fortement, ainsi que les cellules de l'épiderme (subérine et cutine). C'est au nombre élevé de ces faisceaux que l'on doit la forte coloration communiquée à la partie libre du pétale de la fleur de Jas-

min ; car un examen des plus minutieux ne permet pas de relever la moindre gouttelette d'huile essentielle. La région de la fleur occupée par les anthères en présente au contraire un très grand nombre (fig. 46) mais, comme le montrent les essais de localisation dans les coupes transversales, elles ne sont pas dues au pétale lui-même mais proviennent des grains de pollen répandus sur lui. On n'en trouve ni dans la partie médiane du parenchyme, entre les faisceaux, ni dans le parenchyme sous-épidermique interne. Aussi les deux uniques anthères sont-elles colorées électivement par le « Soudan III », au plus haut degré (fig. 46).

Les grains de pollen semblent les seuls organes riches en huile essentielle.

Sous l'action du Soudan III, la cutine et la subérine sont colorées en rouge jaunâtre, les gouttelettes d'huile essentielle, en rouge vif clair.

Dans la figure 47 l'huile essentielle existe sur tous les grains de pollen, et extérieure semble-t-il ; comme si elle était produite par eux. Ne provient-elle pas plutôt de l'anthère elle-même ? L'étude microchimique semble le faire croire.

Action du réactif sulfurique. — La réaction est intense au voisinage des anthères. On assiste d'abord à la formation de menus cristaux, α figure 47 ; puis à l'apparition de cristaux tabulaires. Une cristallisation typique est celle qui est représentée dans la figure 47, en α . Elle se produit dans la fleur comme dans la feuille. Celle qui est représentée a été dessinée lors de la réaction sur la feuille du Jasmin.



Fig. 46. — I, Fleur coupée dans son sens longitudinal et soumise à l'action du Soudan III. La région contiguë à l'anthère et l'anthère elle-même révèlent la présence de l'huile essentielle. II, Coupe transversale de la fleur de Jasmin, au niveau des anthères, soumise à l'action du Soudan III. L'huile essentielle est localisée sur les grains de pollen.

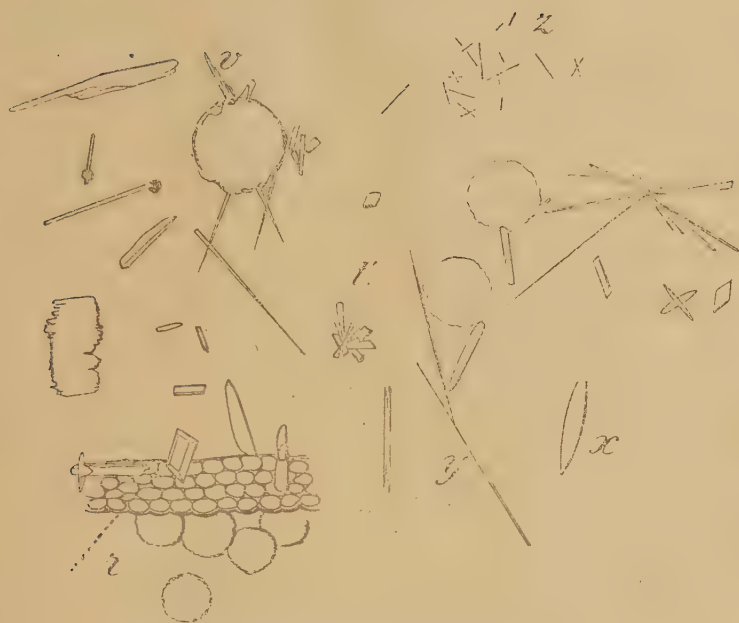


Fig. 47. — Action du réactif sulfurique sur la fleur du Jasmin; un pétale soumis à cette action ne présente de cristaux qu'au niveau de l'anthere qu'il soutient.

z, cristaux de première formation.

r, rebord de l'anthere, couvert de cristaux.

v, grain de pollen, vu à un plus fort grossissement, hérissé de cristaux; à gauche, cristaux nés sur des gouttelettes d'huile essentielle libres.

Les arborescences figurées en *k*, figure 48, avec le gros cristal pyramidal *l* et les mâcles *l'* de la figure 48, du même type géométrique, sont tous des cristaux qui apparaissent spontanément, à la suite de l'action du réactif sulfurique.

En *x*, se trouvent figurées des cristallisations spéciales lancéolées et toujours groupées de cette façon, mais elles présentent des caractères de solubilité tout autres que celles des substances qui nous occupent. Enfin,

dans les préparations laissées quelques jours, mais à l'abri de l'humidité, on obtient les grandes aiguilles

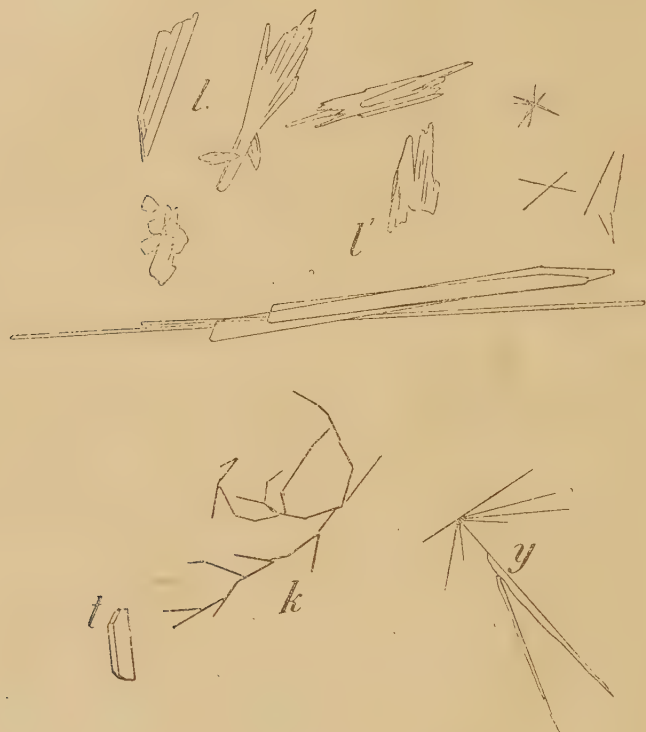


Fig. 48. — Évolution de la réaction.

l et *l'*, Formes cristallines provenant de la réaction dans un tube; la fleur entière était plongée dans le réactif sulfurique.
k, Cristaux de seconde formation, apparaissant sur le pourtour de la préparation.

figurées en *y*, et qui sont toujours associées. Tous les cristaux obtenus quels qu'ils soient, étaient incolores. De nombreuses mâcles composées de fines aiguilles occupaient l'intérieur des cellules. Mais dans celles-ci, nous n'avons pas observé d'autres formes cristallines.

Les formes cristallines les plus nombreuses et les plus caractéristiques proviennent (ici encore) de la réaction en tube (fig. 48, *l* et *l'*). On reconnaît aisément la forme des cristaux de sulfate d'anthranilate.

Caractères de solubilité. — Tous les cristaux autres que ceux représentés en *x*, figure 47, et en *l* figure 48, sont insolubles dans l'eau, dans l'alcool absolu, dans le xylol, dans l'acétone, dans l'acide acétique, dans le réactif sulfurique, dans l'éther pur, dans l'acide sulfurique pur, dans les solutions de SO^4K^2 et de SO^4Ca , dans la glycérine.

Les cristallisations désignées par *x* et par *l*, se sont montrées un peu solubles dans l'éther, solubles dans l'alcool absolu, dans le xylol, très lentement dans l'eau, fort peu dans l'acétone et dans l'acide acétique, qui les reprécipitent de leur solution dans l'alcool, dans l'acide sulfurique pur, dans le réactif sulfurique et dans les solutions saturées de SO^4K^2 et de SO^4Ca , dans la glycérine. Ces formes cristallines doivent donc être rapportées au sulfate d'anthranilate de méthyle.

Identification des cristaux

par leur forme et par leurs caractères de solubilité.

La plupart des cristaux de la figure 48 (cristaux *l*) représentent le sulfate d'anthranilate de méthyle; ils en ont la forme caractéristique et tous les caractères de solubilité.

Les cristaux représentés dans la figure 48 qui n'ont pas les caractères de solubilité du sulfate de l'anthrani-

late de méthyle affectent aussi des formes nettement différentes. Nous y retrouvons les cristaux isolés en forme de double *M* que nous avons rencontrés dans l'action du réactif sulfurique sur l'essence de Néroli.

2° RECHERCHE MICROCHIMIQUE DANS LA FEUILLE DU JASMIN

Cette recherche sert de contre-épreuve à la précédente, cet organe de la plante ne contenant pas de produit odorant.

Les essais de localisation au Soudan^{III} ont donné des résultats négatifs. La feuille ne contient pas d'huile essentielle.

On peut supposer, dans une certaine limite, que tous les cristaux produits avec le réactif sulfurique sur la feuille et qui se retrouvent dans le pétale de la fleur ne sont pas des sulfates obtenus sur les principes odorants et notamment sur l'anthranilate de méthyle. En revanche, on peut examiner microchimiquement les cristaux propres aux pétales comme s'ils représentent ces derniers sulfates.

Sauf celles qui sont désignées par *x*, *l*, et *γ*, toutes les formes de cristallisations obtenues sur la feuille ont été obtenues également dans la réaction sur les pétales. Et elles ont aussi présenté les mêmes caractères de solubilité vis-à-vis de tous les réactifs proposés.

Identification des cristaux. — Il semble que la plupart des cristaux appartiennent par leur forme au sulfate de potassium. Seuls deux caractères de solubilité

ne concordent pas ; ce sont ceux relatifs à l'eau et à l'acide sulfurique pur. Mais remarquons que pour le sulfate de potassium (aussi bien que pour le sulfate de calcium) dans bien des cas, on n'obtenait pas sa dissolution dans l'acide sulfurique. Nous pouvons admettre que nous nous trouvions avec la feuille de jasmin dans un de ces cas négatifs. Quant à l'eau, nous avons en fin de compte, pensé que la proportion des cristaux de sulfate de potassium qui est extraordinairement élevée chez le jasmin, si toutefois c'est bien le sulfate de potassium, était telle que les faibles portions d'eau qu'on glisse sous la lamelle ne suffisent jamais à en assurer la dissolution. Il se peut aussi qu'une matière inconnue dans le protoplasme et mise en liberté par la réaction sulfurique se dissolve dans l'eau, et que cette dernière ainsi chargée ne puisse plus être un solvant du sulfate de potassium.

Tableau des solubilités.

	Cristaux des feuilles du jasmin autres que <i>l, x</i> et <i>y</i>	Cristaux de SO^4K^2
Eau.....	—	+
Alcool.....	—	—
Xylol.....	—	—
Acétone.....	—	—
Acide acétique.....	—	—
SO^1H^3 + éther.....	—	—
SO^4H^2 pur.....	—	+—
Solution saturée SO^4K^2	—	—
Solution saturée SO^4Ca	—	+
Ether pur.....	—	—
Glycérine.....	—	—

CHAPITRE IX

LE PARFUM CHEZ LA FLEUR DE TUBÉREUSE

La fleur est le seul organe de cette plante qui soit odorant. M. HESSE (1) a montré qu'il se formait pendant l'enfleurage environ douze fois autant d'essence qu'il en existait primitivement dans la fleur. Et les fleurs retirées des châssis d'enfleurage contiennent encore une certaine quantité d'huile essentielle. « Il est donc hors de doute que les produits odorants prennent naissance pendant que se prolonge la vie de la plante (2). »

L'analyse montre que cette essence contient notamment de l'anthranilate de méthyle et du salicylate de méthyle. La teneur en anthranilate est plus forte dans l'essence retirée par enfleurage que dans le produit d'extraction par les dissolvants volatils. On peut donc prévoir dès maintenant *que la fleur de tubéreuse traitée par l'éther du réactif sulfurique ne présentera qu'une très faible quantité d'anthranilate de méthyle.*

1. A. HESSE. *Ber. d. d. Chem. Gesel.*, Berlin, 1903, t. XXXVI. p. 1459.

2. CHARABOT et GATIN. *Loc. cit.*

D. — RECHERCHE MICROCHIMIQUE DE L'ANTHRANILATE
DE MÉTHYLE DANS LA FLEUR DE TUBÉREUSE

(*Polianthes tuberosa* L. *Amaryllidacée*).

Localisation de l'essence. — La recherche de la localisation de l'essence nous a donné des résultats assez comparables à ceux qui ont été obtenus sur le Jasmin.

Les gouttelettes d'huile essentielle se sont quelquefois signalées (grâce au Soudan III) à l'intérieur des cellules de parenchyme externe et au voisinage des faisceaux libéro-ligneux. (Côté externe aussi.)

Il existe en outre à l'extrémité des pétales de la fleur des groupes de poils unicellulaires serrés les uns contre les autres et dont la teneur en huile essentielle est considérable (fig. 49). Aussi les fleurs qui ont séjourné dans une solution de Soudan III ont-elles l'extrémité des



Fig. 49. — Fleurs de Tubéreuse, soumises à l'action du Soudan III ; les pointes des pétales seules se montrent colorées par ce produit. A droite, poils de la pointe d'un pétale, colorés par le Soudan III. En dessous, aspect des poils vus à un faible grossissement.

pétales très violemment colorée en rouge. C'est là surtout qu'il faut rechercher l'essence et c'est au voisinage de ces appareils d'ailleurs que la recherche microchimique a donné les meilleurs résultats.

Produits de la réaction. — Les cristallisations sont très rares, comme le montrent les figures, et les formes cristallines offrent peu de variété. La plupart des cristaux appartiennent de par leur forme au sulfate de potassium, et ils ont aussi présenté les caractères de solubilité de ce corps.

Dans le cas de la Tubéreuse, le sulfate de potassium se montrerait plus soluble dans l'eau que dans le cas du Jasmin, et cette solubilité facile coïncidant avec un très petit nombre de cristaux, c'est pourquoi nous avons cru devoir identifier, malgré son caractère de solubilité négatif pour l'eau, le corps cristallisé si abondant dans le jasmin avec un sulfate de potassium dont la masse encore cristallisée saturerait constamment l'eau.

La forme désignée par *g* dans la figure 50 s'est montrée soluble dans l'acétone et l'alcool absolu. Elle était très rare et isolée. L'addition d'éther faite lors de la dissolution dans l'alcool absolu, dans l'acide sulfurique pur, la reprécipitait. Comme les caractères de solubilité répondaient à celui du sulfate d'anthranilate, nous admettrons qu'il s'agit de ce corps.

Malgré de nombreux essais, nous n'avons jamais pu mettre en évidence d'autres formes cristallines que celles qui sont contenues dans la figure 50.

Aussi, jusqu'à nouvel ordre, nous pouvons dire que *l'anthranilate de méthyle semble n'exister qu'à l'état de*

traces dans la fleur de *Tubéreuse*, qui n'a pas été soumise à « l'enfleurage ».

Ces résultats confirment ceux qu'avaient obtenus

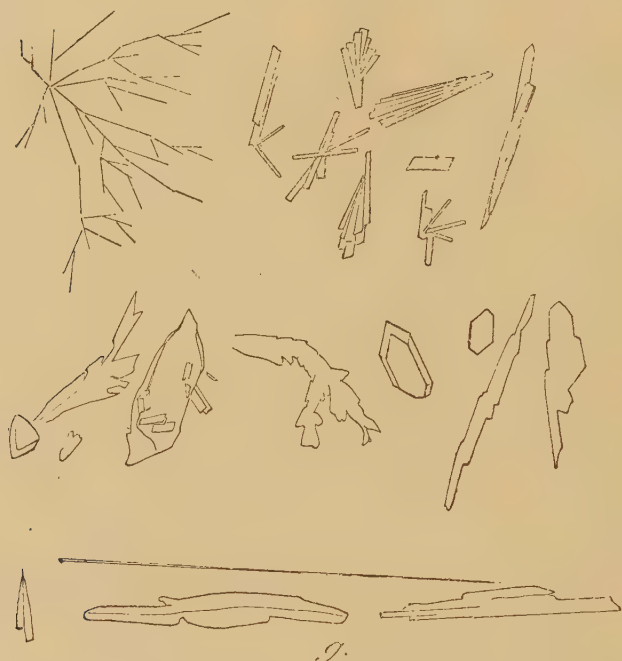


Fig. 50. — Action du réactif sulfurique sur la fleur de *Tubéreuse* ;
en g, cristaux de première formation.

HESSE (1903) (1) et, en ce qui concerne la tubéreuse, ils apportent à l'hypothèse de CHARABOT et GATIN (1908) (2) une vérification définitive. « Il est hors de doute que les produits odorants prennent naissance pendant que se prolonge la vie de la plante. »

1. HESSE, *Loc. cit.*

2. CHARABOT et GATIN. *Loc. cit.*

CHAPITRE X

RECHERCHE MICROCHIMIQUE DE L'ANTHRANILATE DE MÉTHYLE DANS L'AXE HYPOCOTYLÉ DU LUPIN ROSE

L'anthranilate de méthyle n'a pas été signalé chez cette plante. C'est une remarque de GATIN à propos du *Nigella damascena* qui nous a suggéré cette étude. GATIN était persuadé que la graine du *Nigella damascena*, quand elle commence à devenir le théâtre des phénomènes de la germination, contient de l'anthranilate de méthyle. Il pouvait en être ainsi chez le Lupin rose ; c'est ce que nous avons recherché. En même temps, nous avons été amené — d'ailleurs sur le conseil de GATIN lui-même — à faire la même recherche sur la graine du *Nigella damascena*.

Dans un verre à essais rempli de sciure de bois, maintenue humide, nous avons placé plusieurs graines de *Lupin rose*. Au bout de quelques jours, les graines de *Lupin* ont germé et c'est le surlendemain de cette germination que nous avons pu pratiquer dans l'axe hypocotylé de ces jeunes plantes des coupes pour les soumettre à l'action du réactif sulfurique.

Nous avons placé des séries d'axes hypocotylés entiers dans des réactifs de teneur variable, assez riches

en éther, contenus dans de petits tubes soigneusement numérotés.

Assez fréquemment à la surface de l'axe hypocotylé nous observions de petits cristaux rougeâtres : qu'on ne pouvait enlever sans entraîner des fragments du tissu de l'axe. A l'examen microscopique, ils se présentaient comme des cristaux plus grands que ceux qu'on a observés ordinairement dans toute la série des réactions de cette étude, et ils se trouvaient toujours accolés les uns aux autres. A cause de cette association et de leur forme, vaguement conique et allongée, ils rappelaient des tuyaux d'orgue. Ils se sont montrés insolubles dans l'alcool, dans l'éther, dans le xylol. Dans les coupes pratiquées à ce niveau, nous avons constaté la présence constante de masses rouges, parfois cristallisées, à l'intérieur de l'épiderme ou dans les faisceaux libéro-ligneux. Quand elles étaient cristallisées, elles avaient aussi la forme que nous venons de décrire.

Ces masses rouges étaient également insolubles dans l'alcool, l'éther, le xylol.

Mais, outre ce corps, on retrouve des cristaux incolores, en forme de prismes triangulaires, comme ceux de la figure 23, insolubles dans l'alcool, et toutes les formes habituelles du sulfate de potassium ; enfin des cristaux qu'il faut rapporter, à cause de leurs caractères de solubilité, à l'asparagine (fig. 54).

Rappelons à ce propos, le travail de SUZUKI (1) cons-

1. SUZUKI (U). *Bildung von Asparagin im Keimpflanz*. Bull. Col. Agric. Tokio, mars 1902, p. 4.

tatant la présence générale de l'asparagine chez les plantes en germination. L'auteur a conclu que l'aspara-



Fig. 51. — Asparagine mise en évidence par le réactif sulfurique, dans l'axe hypocotylé de la graine de Lupin germée.

gine se produisait par oxydation partielle aux dépens des acides amidés.

Examen du dépôt des petits tubes.

Toute une série nous a donné des résultats totalement négatifs, et généralement les coupes pratiquées dans ces axes hypocotylés n'ont *présenté aucune cristallisation*.

Voici d'ailleurs le tableau d'examen des dépôts, tel qu'il se trouve dans nos notes de laboratoire.

Tubes 1. — Pas de cristaux.

Tubes 2. — Cristaux, aucun soluble dans l'alcool, dans l'éther et dans les solvants du méthylantranilate.

Tubes 3. — Quelques cristaux, mais identiques aux précédents.

Tubes 4. — Cristaux très nombreux, la plupart ayant des caractères de solubilité du SO^4K^3 . Aucun n'a les caractères cherchés.

Tubes 5. — Cristaux nombreux autres que ceux du SO^4K^3 , mais aucun de ceux que l'on recherche.

Tubes 6. — Durée du séjour de l'axe hypocotylé dans le réactif ; 24 heures. Cristaux assez abondants : insolubles dans l'alcool et dans tous les réactifs.

Examen des coupes pratiquées dans les axes hypocotylés.

- 1° Pas de cristaux ;
- 2° Pas de cristaux ;
- 3° Cristaux rares et n'ayant pas de caractères de solubilité positifs.
- 4° Pas de cristaux ;
- 5° Pas de cristaux ;
- 6° Pas de cristaux.

Mais les axes hypocotylés, ayant été conservés dans de petits tubes remplis d'éther pur, présentaient un culot huileux dans lequel nous avons relevé de nombreux cristaux prismatiques très grands, et solubles dans tous nos dissolvants sauf dans l'alcool absolu et le xylol.

En outre nous avons retrouvé les grands cristaux de SO_4K^2 que nous avons rencontré dans la fleur de Tubéreuse et dans la fleur de Jasmin.

En résumé, que les coupes soient transversales, ou radiales, ou tangentielles, nous n'avons jamais pu y relever de cristaux, mais on en trouvait dans le fond des tubes où ces organes soumis au réactif sulfurique avaient séjourné ; ces cristaux n'ont pas les caractères de solubilité du sulfate d'anthranilate de méthyle.

Coupes montées dans le réactif. — Elles ont toutes donné des résultats négatifs. Mais les coupes contenaient des cristallisations d'asparagine, et il est à noter

que celles-ci apparaissent même quand les coupes n'avaient pas subi l'action du réactif ou lorsqu'elles avaient séché à l'air.

Encore faut-il remarquer que ces cristaux d'asparagine n'étaient présents que dans *les plus jeunes germinations*. On ne les rencontre jamais dans les germinations plus âgées.

Essais de localisation au Soudan III. — Sur cinq germinations, une seule m'a donné un résultat positif et encore est-il minime, puisque sur toutes les coupes pratiquées dans cet axe hypocotylé, il n'a été signalé pour tout l'ensemble qu'une seule goutte d'huile. Celle-ci était contenue dans *une cellule de l'épiderme*.

Identification des cristaux. — Les cristaux n'étant pas solubles dans les solvants proposés, ne peuvent appartenir au sulfate d'antranilate de méthyle.

CHAPITRE XI

RECHERCHE MICROCHIMIQUE DE L'ANTHRANILATE DE MÉTHYLE DANS LA GRAINE DE NIGELLA DAMASCENA L.

(*Renonculacée.*)

Localisation de l'essence. — Cette recherche a donné d'excellents résultats positifs, sur des coupes pratiquées dans la graine de *Nigella damascena*, au préalable lavée à l'eau distillée, après action du Soudan III.

Dans une coupe, dont une portion est figurée (fig. 52)

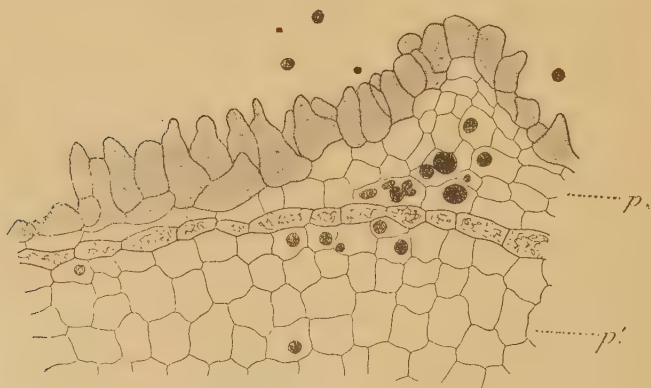


Fig. 52. — Coupe transversale dans la graine de *Nigella damascena*.

p, parenchyme pariétal, contenant de l'huile essentielle.

p', parenchyme externe de la graine renfermant aussi de l'huile essentielle, colorée par le Soudan III (représentée en noir sur la figure).

nous avons mis en évidence des gouttelettes d'essence non seulement dans le parenchyme externe *p* de la graine, mais aussi dans l'eau qui les baignait.

La coupe représentée par la figure 53 nous a donné de plus beaux résultats encore ; non seulement des gouttes d'huile essentielle étaient développées dans le parenchyme externe mais elles étaient encore nombreuses dans le parenchyme central, qui enveloppe étroitement l'embryon. Dans la région moyenne comprise entre ces deux parenchymes actifs, neuf à douze séries de cellules à sections transversales rectangulaires se montrent bourrées d'amidon.

Enfin, la cavité de la loge embryonnaire (figure 53) (cavité créée par un décollement que provoquait la résistance de l'embryon au rasoir) était occupée par deux énormes gouttes d'huile essentielle ; elles sont différenciées en gris dans la figure 53. Les cellules polyédriques des parenchymes central et périphérique avaient un contenu granuleux comme en montrent les cellules jeunes au moment de leur croissance active.

Ce contenu granuleux a été coloré, par le Soudan III, en jaune rouge. Ce fait est intéressant, car les gouttelettes d'huile essentielle contenues dans le parenchyme actif, parenchyme sous-épidermique et parenchyme de la chambre embryonnaire étaient colorées en rouge orangé.

Nous devons noter cette couleur qui est différente de celle présentée par les gouttes d'huile essentielle qu'on a trouvées dans la fleur de Jasmin, et qui est rouge vif. Ce fait nous autorise, dans une certaine mesure, à pré-

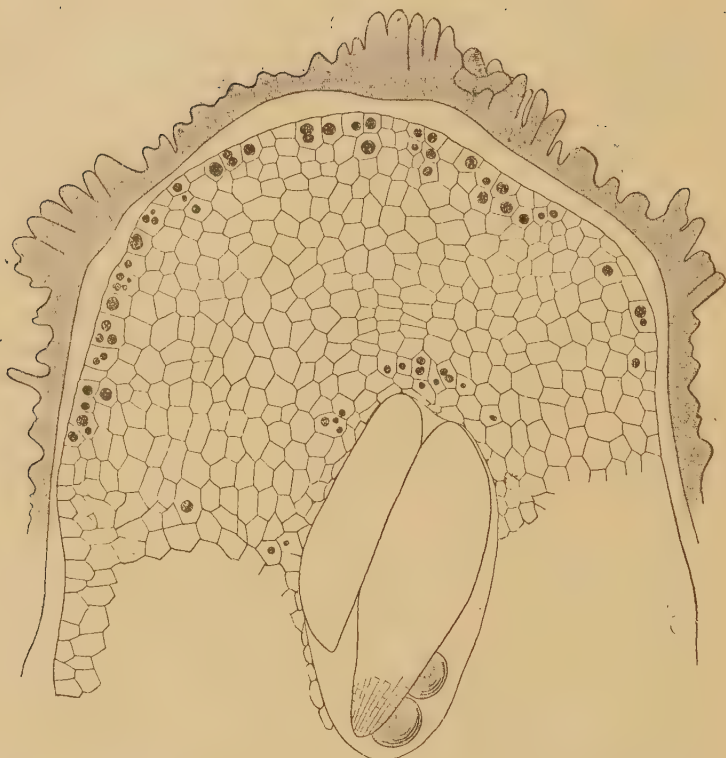


Fig. 53. — Coupe transversale dans la graine de *Nigella damascena*, rencontrant l'embryon. Dans la cavité de la loge embryonnaire, deux grosses gouttelettes d'huile essentielle, mises en évidence par le Soudan III (représentées en gris dans la figure).

sumer que la composition de l'huile essentielle doit être différente et que des produits odorants sont propres à chacune de ces plantes.

La figure 54 est destinée à résumer la localisation de l'essence.

Maintenant nous devons considérer l'embryon. Il prend par l'action du Soudan III, une coloration *jaune rouge* semblable à celle que prend le parenchyme actif

de la graine. Dans la région des deux grosses gouttes d'huile, le tissu embryonnaire avait cette coloration plus forte, de sorte que nous avons le droit d'affirmer que ces gouttes sont dues, non pas à l'activité du pa-

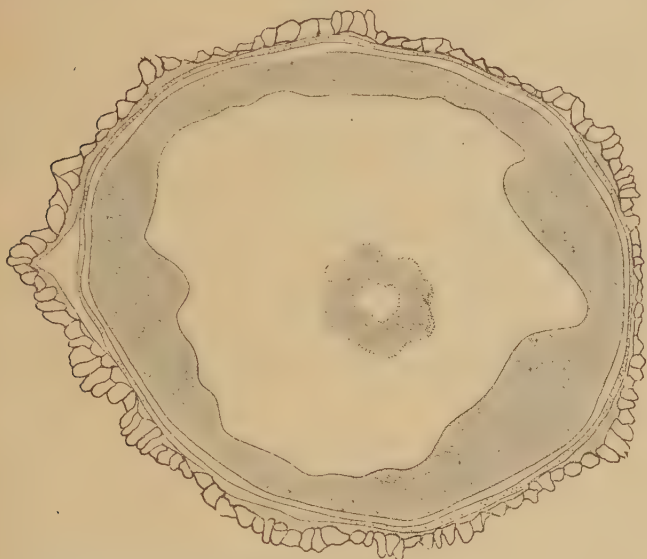


Fig. 54. — Schéma résumant la répartition de l'huile essentielle dans la graine de *Nigella* au moment de sa germination.

renchyme péri-embryonnaire, mais bien à l'activité du tissu de l'embryon.

Études des cristaux formés sous l'action du réactif sulfurique. — Les coupes pratiquées dans la graine et portées dans le réactif ne montrent ni immédiatement, ni le lendemain aucune trace de cristallisation ; après quarante-huit heures environ, on voit quelques cristaux rares, les uns incolores, les autres colorés par le liquide qui les nourrit, en rose. On les voit à l'intérieur des cellules aussi bien qu'en dehors de la coupe, ce sont de

petits prismes minces insolubles dans l'alcool absolu.

On en remarque d'autres petits groupes situés entre les cellules dans l'épaisseur de leur membrane. En dilatéant un peu le parenchyme moyen, bourré de matières de réserve, on met en liberté beaucoup de ces petits cristaux que celles-ci masquaient complètement.

Enfin dans la cavité de la loge embryonnaire, prennent naissance de petits cristaux en fer de lance ; toutes ces formes cristallines ont présenté des caractères de solubilité négatifs.

Les essais constamment répétés se sont montrés infructueux, et cependant des coupes épaisses de graines mises à séjourner dans l'éther d'un petit tube offraient une odeur très agréable rappelant un peu celle de l'essence de Nérolî.

En laissant vieillir ces coupes montées dans le réactif, il n'a pas été obtenu de meilleurs résultats. Il y avait bien des cristaux et toutes leurs formes sont représentées dans la figure 55, mais aucun ne présentait les caractères que nous cherchons.

Seuls ont présenté ces caractères, de petits amas ternes, amorphes, rappelant assez bien ceux d'urates de soude et de potasse, ainsi que des amas d'aspect et de consistance cireux, très lents à se dissoudre dans l'alcool, rappelant absolument ceux du mandarinier (feuilles et écorces), mais que nous ne pouvons pas prendre en considération.

Identification. — Une première déduction s'impose, c'est que les cristaux de sulfate de calcium sont ici dominants.

Les cristaux représentés (fig. 55) ne se sont pas dissous dans l'alcool absolu. On a vu en étudiant l'an-
thranilate de méthyle que son sulfate résiste longtemps à la dissolution. Aussi avons-nous étudié attentivement les caractères de solubilité de ces cristaux. Bien qu'ils

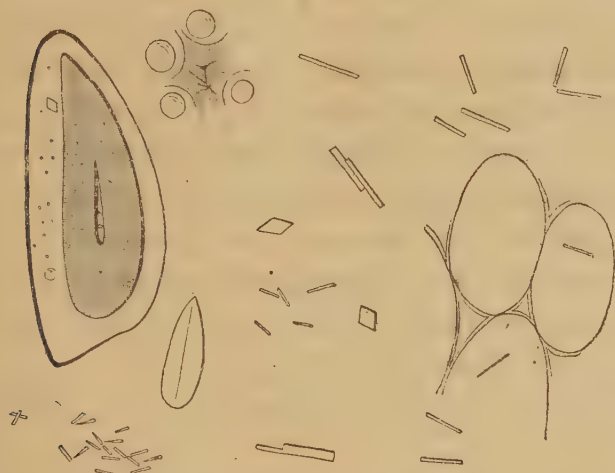


Fig. 55. — Cristaux obtenus par l'action du réactif sulfurique sur la graine de *Nigella damascena*. On remarquera, dans le haut de la figure la petitesse des formes cristalloïdes données par la réaction sur l'embryon ; voir dans le bas de la figure le type uniforme des cristaux obtenus à l'intérieur des cellules du parenchyme.

ne se soient jamais dissous dans l'alcool ou dans l'éther (quelles qu'aient été les variétés de procédés employées,) ils présentaient des caractères de solubilité positifs pour les autres solvants ; aussi jusqu'à nouvel ordre, il ne serait peut-être pas téméraire d'admettre que ce sont là des cristaux de sulfate d'an-
thranilate de méthyle.

CONCLUSIONS

Nous venons de caractériser, à l'aide de réactions microchimiques et de caractères de solubilité bien établis, l'anthranilate et le méthylantranilate de méthyle, ce qui montre qu'il est désormais possible de rechercher au microscope la présence de certains éthers d'acides amidés. La méthode que nous avons indiquée, après de longues et minutieuses études, pour l'anthranilate et le méthylantranilate de méthyle, peut servir de base à la recherche de ces éthers.

L'étude différentielle de tous les systèmes de cristallisation a été faite avec le plus grand soin, et nous a permis d'aboutir à de nombreux résultats positifs, dont le plus essentiel, obtenu en cherchant à différencier les sulfates de méthylantranilate et d'anthranilate d'avec les divers sulfates qu'on peut rencontrer dans les plantes, est que certains d'entre eux jouent un rôle important dans la précipitation cristalline des sulfates de ces éthers. En particulier, *la présence de sulfate de calcium favorise au plus haut point la cristallisation du sulfate de méthylantranilate de méthyle.*

Des caractères comme celui-ci sont certainement appelés à jouer le plus grand rôle dans les recherches microchimique des produits odorants. Aussi considérons-nous ce résultat comme l'un des plus essentiels de notre travail.

Nous estimons en outre que c'est dans cette voie

qu'on peut avantageusement chercher la vraie méthode d'analyse botanique des phénomènes de transport et de dépôt des matériaux constitutifs des essences.

Ce qui est vrai pour les essences à sels d'acides amidés l'est également pour des essences à constituants différents, il s'agira simplement dans chacun des cas à étudier de rechercher les réactifs microchimiques véritablement appropriés aux principales substances contenues dans les huiles essentielles.

Nous avons déjà du reste dans cet ordre d'idées poussé plus avant nos investigations, car notre intention est de donner à l'étude microchimique des essences tout le développement qu'elle comporte. Le programme en effet est vaste et si quelques travaux intéressants ont déjà été faits, il reste encore beaucoup à réaliser dans cette voie.

Il faut reconnaître que les recherches de ce genre sont maintenant rendues faciles, grâce aux travaux de CHARABOT, qui a réussi à isoler et à caractériser un nombre déjà grand de constituants des huiles essentielles. Ses résultats sont évidemment le point de départ de recherches comme celles que nous publions aujourd'hui. On s'en rendra compte en remontant des détails de notre procédé aux caractères chimiques et physiques que l'on reconnaît aux méthylantranilate et anthranilate de méthyle.

Nombreux sont, d'autre part, les problèmes qui se posent quand on étudie les matières odorantes, surtout lorsqu'on les envisage dans leurs rapports avec le fonctionnement de la matière vivante.

Nous savons que les essences tiennent une place importante dans la nutrition du végétal. Cependant, dans beaucoup de traités de physiologie végétale, on les considère encore comme des déchets, bien que cependant rien ne vienne justifier cette conception.

Nous croyons avoir démontré, par l'étude absolument nouvelle des graines en germination du *Lupin* et de la *Nigelle*, que les produits qui composent l'huile essentielle, accompagnent toute activité cellulaire, tout accroissement de l'individu. Ils se sont présentés dans les grains du pollen mûr du Jasmin, dans les poils du pétale de la Tubéreuse lorsqu'il parvient à son complet développement, etc... En aucun cas, ils n'ont apparu comme substance de déchet.

Il convient enfin d'envisager le côté pratique de la question, c'est-à-dire l'application des résultats de toutes les recherches sur les huiles essentielles à l'industrie et à la production des parfums.

Grâce aux recherches microchimiques, il deviendra possible de trouver les moyens d'augmenter dans de notables proportions la production en essence des plantes odorantes, et le botaniste et le chimiste auront à leur disposition des procédés nouveaux d'étude des principes constitutifs de ces plantes.

Vu, bon à imprimer :
Le Président de thèse,

E. PERROT

Vu :
Le Directeur de l'École,
H. GAUTIER

Vu et permis d'imprimer :
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
L. POINCARÉ

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

	Pages
Baker et Smith. — <i>A research on the Eucalyptus.</i>	
Sidney, 1902.	15
Bertram et Walbaum. — <i>Archiv der Pharmacie,</i>	
Berlin, 1897.	20
Blondel. — <i>Les produits odorants des rosiers.</i> Paris,	
1889	23
Bonnier (Gaston). — <i>Annales des Sciences naturelles,</i>	
Botanique	18
Candolle (de). — <i>Physiologie végétale,</i> Paris, 1832 . .	15
Charabot. — <i>Bulletin de la Société chimique,</i> Paris, 1901.	20
— <i>L'agriculture pratique des pays chauds.</i> Paris,	
1904	20
— <i>L'agriculture pratique des pays chauds, t. II.</i>	
Paris, 1902-1903	20
— <i>Bulletin de la Société chimique.</i> Paris, 1902. . .	35
— — — — —	64
Charabot et Gatineau. — <i>Le parfum chez la plante.</i> Paris, 1908.	14
— — — — —	18
— — — — —	21
— — — — —	26
— — — — —	35
— — — — —	65
— — — — —	101
— — — — —	109
— — — — —	118
— — — — —	119
— — — — —	120
— — — — —	132
Charabot et Hebert. — <i>Bulletin de la Société chimique.</i>	
Paris, 1902	19
— <i>Bulletin de la Société chimique.</i> Paris, 1905. . .	19

Charabot et Ebray. — <i>Bulletin de la Société chimique.</i> Paris, 1898	22
Charabot et Laloue. — <i>Bulletin de la Société chimique.</i> Paris, 1907	20
— <i>Bulletin de la Société chimique.</i> Paris, 1904.	64
— Comptes-rendus Académie des Sciences. Paris, 1904	65
— <i>Bulletin de la Société chimique.</i> Paris, 1904.	65
— Comptes-rendus Académie des Sciences. Paris, 1904	101
— Comptes-rendus Académie des Sciences. Paris, 1904	109
Dupont et Guerlain. — Comptes-rendus des séances de l'Académie des Sciences. Paris, 1897.	20
Erdmann. — <i>Berichte der deutschen chemischen Gesells- chaft</i>	118
Franchimont. — <i>Archives néerlandaises. Sciences exac- tes et naturelles.</i> Paris, 1891.	25
Gildemeister et Hoffmann. — <i>Les huiles essentielles.</i> Paris et Leipzig. Paris, 1900	20
Guettard. — <i>Hist. ac. Roy. Sc. Sur les corps glanduleux des plantes</i>	15
Guignard. — <i>Journal de Botanique.</i> Paris, 1890	23
— — — — —	26
Haberlandt. — <i>Physiologische Pflanzenanatomie,</i> Wien, 1896	15
Hanstein. — <i>Botanische Zeitung.</i> Leipzig, 1868	15
Hérail. — <i>Traité de matière médicale.</i> Paris, 1912	110
Hesse (A.). — <i>Berichte der deutschen chemischen Gesells- chaft.</i> Berlin, 1900	118
— <i>Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft.</i> Berlin, 1903.	129
Hesse et Zeitschel. — <i>Journal für praktische chemie.</i> Leipzig, 1900	30
— <i>Journal für praktische chemie.</i> Leipzig, 1901.	101
— — — — —	110
— — — — —	118
— — — — —	132

Leblois. — <i>Annales des sciences naturelles. Botanique.</i> Paris, 1887	15
Malpighi. — <i>Opera omnia.</i> Londini, 1687	15
Martinet. — <i>Organes de sécrétion des végétaux.</i> Paris, 1871	16
Mesnard. — <i>Annales des sciences naturelles. Botanique.</i> Paris, 1894	17
— <i>Annales des sciences naturelles. Botanique.</i> Paris, 1894	25
Meyen. — <i>Sekretionsorganen,</i> Berlin, 1837	17
Mirbel. — <i>Anatomie et physiologie des labiées. Hist.</i> <i>Nat.</i> Paris, 1810	15
Molliard (Marin). — <i>Revue générale de Botanique.</i> Paris, 1905	22
Muller (J.-C.) — <i>Pringsheim's Jahrbücher.</i> Leipzig, 1866-67	15
— <i>Pringsheim's Jahrbücher.</i> Leipzig, 1866-67	17
Perrot (E.) — <i>Journal de Pharmacie et de Chimie,</i> Paris, 1891	25
Sanio. — <i>Pringsheim's Jahrbücher.</i> Leipzig, 1873.	17
Schwabach. — <i>Berichte der deutschen botan. Gesellschaft.</i> Berlin, 1899.	25
Suzuki. — <i>Bildung von asparagin in Keimpflanz.</i> Tokio, 1902	134
Van Tieghem. — <i>Annales des sciences naturelles. Bo-</i> <i>tanique.</i> Paris, 1885	15
Trécul. — <i>Observations sur la structure des fleurs des</i> <i>orchidées.</i> Paris, 1855	15
Tschirch. — <i>Berichte der deutschen botanischen Ge-</i> <i>sellschaft.</i> Berlin, 1901.	15
— <i>Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft.</i> Berlin, 1901	17
Tschirch et Biermann. — <i>Archiv der Pharmacie.</i> Ber- lin, 1898	1
Tschirch et Tunmann. — <i>Archiv der Pharmacie.</i> Ber- lin, 1901.	16

Tunmann (Otto). — <i>Über die Sekretdrüsen.</i> Berne, 1900	23
Walbaum. — <i>Journal für prakt. chem.,</i> Leipzig, 1900 .	35
— — — — — 1899 .	85
Warming. — <i>Lehrbuch der OEkologische Pflanzengeo- graphie,</i> Berlin, 1902	18

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION.	7
HISTORIQUE	10
Méthodes de recherche du Méthylanthranilate et de l'An- thranilate de Méthyle	29

PREMIÈRE PARTIE

Recherche du Méthylanthranilate de Méthyle.	33
--	----

CHAPITRE PREMIER

Etude microchimique du Méthylanthranilate de Méthyle.	35
Etude des cristallisations du sulfate de Méthylanthranilate de Méthyle	36
Caractères de solubilité des cristaux obtenus.	39

CHAPITRE II

Etude microchimique de la réaction sulfurique sur le Po- tassium, le Calcium, et l'Asparagine.	42
A. — Etude des cristallisations du sulfate de Potas- sium.	42
Comparaison des cristallisations du sulfate de Potassium, avec celles du sulfate de Méthylanthranilate de Méthyle	46
B. — Etude des cristallisations du sulfate de Calcium.	48
C. — Etude des cristallisations obtenues par l'action du réactif sulfurique sur l'Asparagine.	50
Tableau des solubilités	53

D. — Etude microchimique de ces divers sulfates obtenus simultanément	53
1° Etude des cristallisations de sulfate de potassium et de sulfate de méthylanthranilate obtenus simultanément	54
2° Etude des cristaux de sulfate de calcium et de sulfate de méthylanthranilate de méthyle produits simultanément	57
E. — Essai de reconstitution de la réaction sur les végétaux.	61

CHAPITRE III

Recherche du Méthylanthranilate de Méthyle chez les plantes	64
1° Chez le mandarinier.	64
Etude microchimique de l'essence de mandarine.	65
2° Etude microchimique de l'essence de mandarine en présence du carbonate neutre de Potassium.	71
3° Etude microchimique de l'essence de mandarine en présence du chlorure de Calcium.	73
4° Recherche du Méthylanthranilate de Méthyle dans l'essence de mandarine en présence de l'Asparagine	74
5° Recherche microchimique du Méthylanthranilate de Méthyle dans l'écorce de la mandarine.	75
6° Recherche dans la feuille du mandarinier	78
7° Recherche du Méthylanthranilate de Méthyle chez la Rue et le Bergamotier	79

DEUXIÈME PARTIE

Recherches sur l'Anthranilate de Méthyle.	83
---	----

CHAPITRE PREMIER

Etude microchimique de l'Anthranilate de Méthyle	85
Action du réactif, acide sulfurique + éther	87
Caractères de solubilité des cristaux obtenus.	91

CHAPITRE II

Formation simultanée de sulfate d'Anthranilate de Méthyle et de sulfate de Potassium	95
---	----

CHAPITRE III

Formation simultanée de sulfate d'Anthranilate de Méthyle et de sulfate de calcium.	97
--	----

CHAPITRE IV

Formation simultanée de sulfate d'Anthranilate de Méthyle et de sulfate d'Asparagine.	98
--	----

CHAPITRE V

Essai de formation simultanée des 4 sulfates d'Anthranilate de Méthyle, d'Asparagine, de Calcium et de Potas- sium	99
--	----

CHAPITRE VI

Recherche de l'Anthranilate de Méthyle chez les plantes.	101
Etude microchimique de l'essence de Néoli	102

CHAPITRE VII

Identification des cristaux de sulfate d'Anthranilate de Mé- thyle	107
Recherche microchimique de l'Anthranilate de Méthyle dans la fleur d'Oranger	109
Recherche microchimique de l'Anthranilate de Méthyle dans la feuille d'Oranger	116

CHAPITRE VIII

Le parfum chez la fleur de Jasmin	118
Recherche microchimique de l'Anthranilate de Méthyle dans la fleur de Jasmin	120

Identification des cristaux	125
Recherche microchimique dans la feuille de Jasmin. . .	126
Tableau des solubilités.	128

CHAPITRE IX

Le parfum chez la fleur de Tubéreuse	129
Recherche microchimique de l'Anthranilate de Méthyle dans la fleur de Tubéreuse.	130

CHAPITRE X

Recherche microchimique de l'Anthranilate de Méthyle dans l'axe hypocotylé du Lupin rose.	133
--	-----

CHAPITRE IX

Recherche microchimique de l'Anthranilate de Méthyle dans la graine de <i>Nigella damascena</i>	138
CONCLUSIONS.	142
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.	147

MAYENNE IMPRIMERIE CHARLES COLIN

